

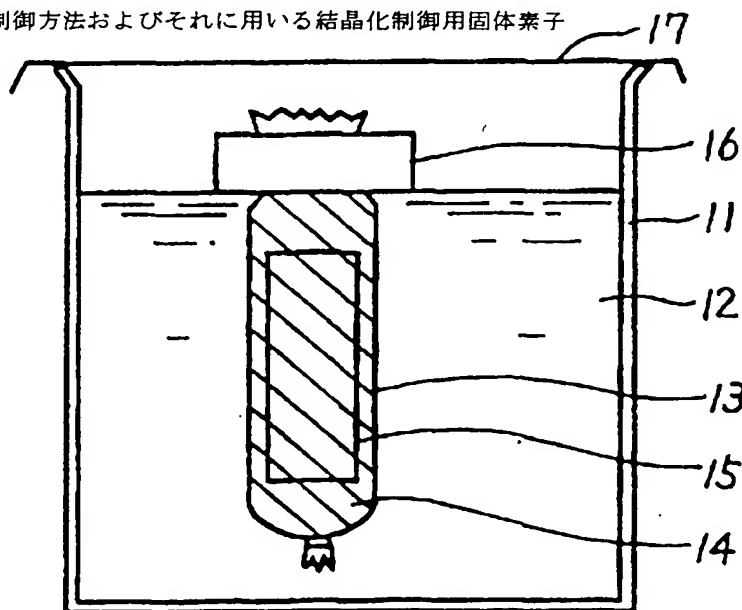


特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類6 B01D 9/02, C30B 29/54</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO96/26781</p> <p>(43) 国際公開日 1996年9月6日(06.09.96)</p>						
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP96/00462</p> <p>(22) 国際出願日 1996年2月28日(28.02.96)</p> <p>(30) 優先権データ</p> <table border="0"> <tr> <td>特願平7/68597</td> <td>1995年3月1日(01.03.95)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平7/329688</td> <td>1995年11月24日(24.11.95)</td> <td>JP</td> </tr> </table> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友金属工業株式会社 (SUMITOMO METAL INDUSTRIES, LTD.)(JP/JP) 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 Osaka, (JP)</p> <p>2) 発明者：および</p> <p>(75) 発明者／出願人 (米国についてのみ) 三城 明(SANJOH, Akira)(JP/JP) 〒541 大阪府大阪市中央区北浜4丁目5番33号 住友金属工業株式会社内 Osaka, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 深見久郎, 外(FUKAMI, Hisao et al.) 〒530 大阪府大阪市北区南森町2丁目1番29号 住友銀行南森町ビル Osaka, (JP)</p>		特願平7/68597	1995年3月1日(01.03.95)	JP	特願平7/329688	1995年11月24日(24.11.95)	JP	<p>(81) 指定国 CA, US, 欧州特許(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
特願平7/68597	1995年3月1日(01.03.95)	JP						
特願平7/329688	1995年11月24日(24.11.95)	JP						

(54) Title : METHOD OF CONTROLLING CRYSTALLIZATION OF ORGANIC COMPOUNDS AND SOLID-STATE COMPONENT FOR CONTROLLING CRYSTALLIZATION IN SAID METHOD

(54) 発明の名称 有機化合物の結晶化制御方法およびそれに用いる結晶化制御用固体素子



(57) Abstract

A method of controlling the crystallization of biopolymers such as proteins, which comprises bringing into contact with a biopolymer-containing buffer solution (14) a silicon crystal (15) with the valence electrons thereof so controlled as to be able to control the concentration of the holes or electrons of the surface molecules in accordance with the environment of the solution (14), and depositing biopolymer crystals on the surface of the silicon crystal (15), while controlling the crystallization of the biopolymer by means of the electrical condition brought about on the surface of the crystal (15) by the controlled valence electrons.

蛋白質等の生体高分子の結晶化を制御できる方法が提供される。蛋白質等の生体高分子を含む緩衝溶液(14)の環境に応じて表面分子の正孔または電子の濃度を制御できるように価電子が制御されたシリコン結晶(15)を溶液(14)に接触させ、シリコン結晶(15)の表面に生体高分子の結晶を析出させていく。結晶化は、制御された価電子によりシリコン結晶(15)の表面にもたらされる電気的狀態によって、制御される。

情報としての用途のみ

PCTに基づいて公開される国際出願をパンフレット第一頁にPCT加盟国を同定するために使用されるコード

AL	アルバニア	DE	ドイツ	LI	リヒテンシュタイン	PL	ポーランド
AM	アルメニア	DK	デンマーク	LC	セントルシア	PT	ポルトガル
AT	オーストリア	EE	エストニア	LK	スリランカ	RO	ルーマニア
AU	オーストラリア	ES	スペイン	LR	レソト	RU	ロシア連邦
AZ	アゼルバイジャン	FI	フィンランド	LS	レソト	SD	スーダン
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	FR	フランス	LT	リトアニア	SE	スウェーデン
BB	バルバドス	GB	イギリス	LU	ルクセンブルグ	SG	シンガポール
BE	ベルギー	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	SI	スロベニア
BF	ブルキナ・ファソ	GR	ギリシャ	MC	モナコ	SK	スロバキア
BG	ブルガリア	GN	ギニア	MD	モルドバ共和国	SN	セネガル
BJ	ベナン	GU	グアテマラ	MG	マダガスカル	SZ	スワジランド
BR	ブラジル	IE	アイルランド	MK	マケドニア共和国	TD	チュニジア
BY	ベラルーシ	IL	イスラエル	ML	マリ	TG	トーゴ
CA	カナダ	IS	アイスランド	MN	モンゴル	TJ	タジキスタン
CF	中央アフリカ共和国	IT	イタリア	MR	モーリタニア	TM	トルクメニスタン
CG	コンゴ	JP	日本	MW	マラウイ	TR	トルコ
CH	スイス	KE	ケニア	MX	メキシコ	TT	トリニダード・トバゴ
CI	コート・ジボアール	KR	韓国	NE	ニジェール	UG	ウガンダ
CM	カメルーン	KZ	カザフスタン	NL	オランダ	US	アメリカ合衆国
CN	中国			NO	ノルウェー	UZ	ウズベキスタン
CU	キューバ			NZ	ニュージーランド	VN	ベトナム
CZ	チェコ共和国						

明 細 書

有機化合物の結晶化制御方法

およびそれに用いる結晶化制御用固体素子

技術分野

- 5 本発明は、有機化合物の結晶化を積極的に制御するための方法に関し、特に、価電子が制御された半導体基板等を用いて、蛋白質を始めとする種々の生体高分子の結晶化を制御するための方法に関する。

背景技術

- 10 蛋白質を始めとする各種生体高分子およびそれらの複合体における特異的性質および機能を理解する上で、それらの詳細な立体構造は、不可欠な情報となっている。たとえば、基礎生化学的な観点から、蛋白質等の三次元構造の情報
- 15 は、酵素やホルモン等による生化学系での機能発現のメカニズムを理解する上で基礎となる。また、産業界のうち特に薬学、遺伝子工学、化学工学の分野においては、三次元構造は、ドラッグデザイン、プロテインエンジニアリング、生化学的合成等を進める上で合理的な分子設計に欠かせない情報を提供する。

- 20 このような生体高分子の原子レベルでの三次元立体構造情報を得る方法としては、現在のところX線結晶構造解析が最も有力かつ高精度な手段である。近年のX線光源・回折装置のハードウェア上の改良による測定時間の短縮、測定精度の向上に加え、コンピュータの計算処理速度の飛躍

的な向上により、解析スピードが大幅に向上してきており、今後もX線結晶解析を主流として三次元構造が明らかにされていくものと思われる。

5 一方、X線結晶構造解析により生体高分子の三次元構造を決定するためには、目的とする物質を抽出・精製後、結晶化することが必須となる。しかし、現在のところ、どの物質に対しても適用すれば必ず結晶化できるといった手法および装置がないため、勘と経験に頼ったトライアンドエラーを繰返しながら結晶化を進めているのが実情である。

10 生体高分子の結晶を得るためには、非常に多くの実験条件による探索が必要であり、結晶成長がX線結晶解析の分野での最も大きなボトルネックとなっている。

蛋白質等の生体高分子の結晶化は、通常は無機塩等の低分子量化合物の場合と同様、高分子を含む水または非水溶液から溶媒を奪う処理を施すことにより、過飽和状態にして、結晶を成長させるのが基本となっている。このための代表的な方法として、(1)バッチ法、(2)透析法、

15 (3)気液相間拡散法があり、試料の種類、量、性質等によって使い分けられている。

20 バッチ法は、生体高分子を含む溶液に、水和水を奪う沈澱剤を直接添加して、生体高分子の溶解度を低下させ、固相へ変化させる方法である。この方法では、たとえば固体の硫酸アンモニウム(硫安)がよく使用される。この方法は、溶液試料を大量に必要とし、塩濃度、pHの微妙な調

整が困難であること、さらに操作に熟練を要し、再現性が低いといった欠点を有する。透析法は、バッチ法の欠点を改善した方法で、たとえば図 4 5 に示すように、透析チューブ 5 1 の内部に生体高分子を含む溶液 5 2 を密封し、透析チューブ外液 5 3 (たとえば緩衝溶液) の pH 等を連続的に変化させ結晶化を行なう方法である。この方法によれば、内外液の塩濃度、pH 差を任意の速度で調節可能であるため、結晶化の条件を見出しやすい。気液相間拡散法は、たとえば図 4 6 に示すように、カバーガラス等の試料台 6 1 上に、試料溶液の液滴 6 2 を載せ、密閉した容器 6 3 内にこの液滴と沈澱剤溶液 6 4 を入れることにより、両者間の揮発成分の蒸発によって緩やかに平衡を成立させる手法である。

しかし、蛋白質等の生体高分子の結晶化には、前述したように種々の問題点があるのが実情である。第 1 に、結晶性が良好でないことである。生体高分子には、他の物質の結晶とは異なり、多量の溶媒(主として水)が含まれている(≥ 50 体積%)。この溶媒が、無秩序であり、かつ結晶中で分子間の空隙となっている部分を容易に可動し得る。また、分子が巨大であるにもかかわらず、結晶中で広範囲な分子間のパッキングコンタクトがほとんどなく、わずかの分子-分子間コンタクトまたは水分子を介した水素結合によるコンタクトしか存在していない。このような要因のため結晶性は良好でない。第 2 に、結晶条件に非常に敏感

であることである。生体高分子は、個々の分子表面間の相互作用により、溶媒中で安定化されている一方、分子表面の電荷分布、特にアミノ酸の分子表面近傍でのコンフォメーション等は、環境、すなわち溶液のpH、イオン強度、
5 温度、緩衝溶液の種類、誘電率等により大きく変化する。したがって、結晶化プロセスは、複雑な種々の条件の絡み合ったマルチパラメータプロセスとなり、どの物質に対しても適用できる統一的な手法が確立できていない。また蛋白質については、水溶性蛋白質に比べ、生化学的に非常に
10 重要であるにもかかわらず、疎水性の膜蛋白質の結晶化が、現在、非常に困難であり、結晶化を行ないさらに高分解能の解析に成功した例はこれまでわずか2件のみである。

以上のように、蛋白質を始めとする生体高分子およびこれらの複合体の結晶化は、学術および産業上の重要なプロセスであるにもかかわらず、これまで試行錯誤を繰り返しながら進められてきたため、X線結晶構造解析の最大のネックとなっている。したがって、今後結晶化の基本原理を理解して、どの分子に対しても適用し得る結晶化技術を開発
15 する必要がある。

20 発明の開示

本発明の目的は、上述したように多様な特性を有するためにどの物質に対しても適用できる手法がなく、試行錯誤を繰り返しながら進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を、技術的に解消することである。

具体的には、本発明は、種々の生体高分子および生体高分子から主として構成される生体組織の結晶化の初期過程における核形成を制御し、これにより微結晶の大量生成を抑制または制御する方法、ならびにX線構造解析を可能にし得る大型の結晶にまで成長させる技術を提供することを目的としている。

本発明に従って、溶媒中に含まれる有機化合物の結晶化を制御するための方法は、有機化合物を含む溶媒の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるように価電子が制御された固体素子を与える工程と、固体素子を有機化合物を含む溶媒に接触させ、固体素子の表面において有機化合物の結晶を析出させる工程とを備え、そこにおいて、制御された価電子により固体表面にもたらされる電気的状態によって、有機化合物の結晶化は制御される。

本発明は、脂肪族化合物、芳香族化合物等、種々の有機化合物を結晶化するため用いることができる。また本発明は、特に、有機化合物の中で、アミノ酸、蛋白質、脂質、糖質、核酸などの生体を構成する化合物、ならびにこれらの複合体および誘導体を結晶化させるため好ましく適用される。本発明は、生体高分子の結晶化のため好ましく適用される。

本発明では、価電子制御が可能な固体素子の表面に有機化合物を析出させる。そのような固体素子として、半導体基板を用いることができる。半導体には、Ge、Si等の

単体のもの、Ga-As、CdS等の化合物のものが含まれる。また本発明では、価電子制御が可能なものであれば、その他の材料を用いることもでき、たとえば、チタン酸バリウム、チタン酸ストロンチウム等の強誘電体を用いることもできる。

さらに、該固体素子である半導体基板は、PN接合部を有することができる。すなわち、PN接合を有する半導体デバイス（素子）を、固体素子として用いることができる。

一方、該固体素子は、溝を有することができ、溝において、有機化合物を析出させることができる。PN接合を有する半導体基板を固体素子として用いる場合、溝においてPN接合部が露出していることが好ましい。

なお本発明において、溶媒は、結晶化すべき有機化合物を保持するための液体であれば特に限定されるものではない。溶媒として、多くの場合、水または緩衝塩溶液等の水溶液が用いられるが、その他の有機溶媒等を用いることもできる。本発明において、電解質溶液が溶媒として好ましく用いられる。

本発明の方法では、用いる固体素子に空間電荷層を形成し、該空間電荷層に基づく表面電位によって、有機化合物の結晶化を制御することができる。また、該表面電位を固体素子の表面の部位によって異ならしめ、それにより、固体素子表面の特定の領域で所望の結晶化を行なうことができる。

固体素子の表面電位または表面の電気的狀態は、固体素子中にドーピングされる不純物の濃度によって制御することができる。固体素子中に含有される不純物の濃度は、通常、固体素子の表面部分と内部とで異なっている。

5 また、固体素子の表面部分において、第 1 の所定領域から第 2 の所定領域まで、不純物の濃度を連続的または段階的に減少または増加させることができる。さらに、固体素子の表面部分において、不純物濃度は、特定の領域において極大もしくは最大または極小もしくは最小となるよう設定
10 することもできる。

本発明の方法において、固体素子の表面部分は、互いに不純物濃度の異なる第 1 の領域と第 2 の領域とを少なくとも有することができる。第 1 の領域および第 2 の領域のいずれかで結晶化を促進し、残りの領域で結晶化を抑制
15 することができる。このような第 1 の領域と第 2 の領域は、2次元的に配列することができる。

また、本発明に従い、上述してきた方法に用いる結晶化制御用固体素子を提供することができる。このような素子は、溶媒中に含まれる有機化合物の結晶化を制御するため、
20 所定の表面電位をもたらすよう、少なくとも表面部分に不純物が添加されている半導体基板を備える。

図面の簡単な説明

図 1 は、本発明に従って、固体素子の表面に結晶核が固定化され、結晶成長が進んでいくようすを示す模式図であ

る。

図 2 は、本発明を実施するための装置の一例を示す模式図である。

5 図 3 は、本発明を実施するための装置のもう 1 つの例を示す模式図である。

図 4 は、本発明において固体素子として用いられるシリコン結晶の構造の一例を示す概略断面図である。

図 5 は、本発明の固体素子を形成するプロセスを示す概略断面図である。

10 図 6 は、不純物濃度の異なる領域を有する固体素子を示す概略断面図である。

図 7 は、不純物濃度の異なる領域を有する他の固体素子を示す概略断面図である。

15 図 8 は、不純物濃度の異なる領域を有する固体素子において結晶化が制御される状態を説明するための概略断面図である。

図 9 は、不純物濃度の異なる領域が 2 次元的に配列された固体素子の具体例を示す斜視図である。

20 図 10 は、図 9 の固体素子の一部を示す概略断面図である。

図 11 は、図 10 に示す素子の部分における表面電荷密度分布を示す図である。

図 12 は、図 9 に示す固体素子の製造プロセスの一例を示す概略断面図である。

図 1 3 は、溝を有する固体素子の製造プロセスの 1 つの例を示す概略断面図である。

図 1 4 は、不純物濃度が段階的に変化した固体素子の具体例を示す概略断面図である。

5 図 1 5 は、図 1 4 に示す固体素子における不純物濃度の分布および表面電位の変化を示す図である。

図 1 6 は、不純物濃度が連続的に変化した固体素子の一具体例を示す概略断面図である。

10 図 1 7 は、図 1 6 に示す固体素子における不純物濃度の分布および表面電位の変化を示す図である。

図 1 8 は、中央部に不純物濃度が最も低い領域を有する固体素子の具体例を示す概略断面図である。

図 1 9 は、図 1 8 に示す固体素子における不純物濃度の分布および表面電位の変化を示す図である。

15 図 2 0 は、中央部に不純物濃度が最も高い領域を有する固体素子の具体例を示す断面図である。

図 2 1 は、図 2 0 に示す固体素子における不純物濃度の分布および表面電位の変化を示す図である。

20 図 2 2 は、価電子制御されたシリコン基板と、結晶化すべき分子との間の電氣的凝集効果を、電気二重層間の静電相互作用ポテンシャルによって説明するための図である。

図 2 3、2 4、2 5 および 2 6 は、例 1 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 2 7、2 8、2 9 および 3 0 は、例 2 において生成し

た結晶構造の顕微鏡写真である。

図 3 1、3 2、3 3 および 3 4 は、例 3 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

5 図 3 5 は、シリコン基板上に溝を形成するプロセスを示す模式図である。

図 3 6 および 3 7 は、例 4 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

10 図 3 8、3 9 および 4 0 は、例 5 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 4 1、4 2、4 3 および 4 4 は、例 7 において生成した結晶構造の顕微鏡写真である。

図 4 5 は、従来の方法に用いられる装置の一例を示す模式図である。

15 図 4 6 は、従来の方法に用いられる装置のもう 1 つの例を示す模式図である。

発明を実施するための最良の形態

20 蛋白質を始めとする生体高分子物質は、他の低分子化合物と異なり比重が非常に大きい。そして溶液内においては、ほとんど幾何学的に特異的な構造および静電的な相互作用（静電斥力・引力、ファンデルワールス力）によって分子間同士の認識が行なわれている。静電的なエネルギーに基づく分子間の相互作用においては、個々の分子最表面でのわずかの空間的な電荷分布の相違が、分子間の認識度合、分子集合体の作りやすさに決定的な影響を及ぼすことが予想

される。したがって、比重の大きな生体高分子が、溶液中で沈降、凝集する際に、周囲の溶液の密度が局部的に変化し、低密度溶液が上昇して対流を引起こすことにより、均一な結晶成長が妨げられると考えられる。さらには、結晶核が形成されたとしても、核分子表面の分子構造、電荷分布が、分子の変性（立体構造が変形した状態になること）等の影響により、同一でなくなってくれば、核の周囲に集合する各分子は、互いに緩く結合することになり、よって結晶性が低下するものと考えられる。

本発明では、結晶核を安定して生成させるため、価電子が制御された固体素子を結晶化すべき有機化合物を含む液に接触させる。該固体素子は、液と接触する表面から内部に向かって、あるいは該固体素子の断面内において、価電子制御により電子および正孔の濃度を制御することができ、それによって固体素子表面の電気的性状を制御することができる。たとえば、結晶化の対象となる分子の有する実効表面電荷の極性および電荷量に対して、少なくとも1分子当たりの実効電荷量と同等かあるいはそれ以上の制御された電荷量を有する固体素子をもたらすことができる。また、該固体素子における価電子制御により、結晶化の対象となる分子に対して、オーミック特性、非オーミック特性、オーミック特性と非オーミック特性の空間的に混在した特性のうち少なくとも1つ以上の電気的特性を有する固体素子表面をもたらすことができる。このような価電子制御は、

たとえば、半導体結晶中に所定の濃度で所定の領域にドーパントを導入することにより可能となる。本発明によれば、このような固体素子の表面に電気的作用によって結晶核を固定し、該固体素子の表面において結晶の成長を制御することができる。

たとえば図 1 に、本発明に従い、固体素子表面において結晶核が固定され、結晶が成長していくようすを模式的に示す。本発明では、図 1 (a) に示すように、価電子制御により、所定の電気的狀態とされる固体素子 1 の表面に、結晶核 2 が静電的な作用によって固定される。そして、図 1 (b) に示すように、蛋白質等の有機化合物は、静電的な相互作用により、固体素子表面に凝集し、結晶核の生成が促進され、結晶の成長がもたらされる。したがって、固体素子表面の電気的特性を制御することにより、結晶化の制御が可能となる。たとえば、固体素子表面に固定される結晶核の種類、量、配列密度等を価電子制御により調整することができ、それによって結晶化の制御が可能となる。また、生成された結晶核が固体素子表面に固定されているため、溶液内の対流等による核の微小な変動が抑制され、核の形成に従って規則的に分子が集合し、結晶性が向上することも期待される。

また、一般に電解質溶液内における帯電物質または分子の凝集性は、それらの間の電気二重層斥力とファンデルワールス力との和に依存するため、物質または分子同士を凝

集させる場合、電解質溶液中に添加する表面電位を調整するための塩濃度をコントロールすることが非常に重要となるが、本発明によれば、固体素子表面の静電特性は予め価電子制御により調整できるため、塩濃度の調整が容易または不要になるという長所も有する。

このような目的に供される固体としては、上述したような静電特性を有し、電荷量および極性の制御可能な物質で、さらに溶液中で化学的に安定な物質であれば、どのような物質でもよいが、好ましい材料の1つとして半導体結晶であるシリコンが挙げられる。以下、シリコン結晶を用いた場合について予想される結晶化のメカニズムを以下に説明する。しかしながら、以下に記載されるメカニズムは、本発明に従って用いられる他の固体素子にもあてはめることができる。

たとえば、負の実効電荷を有する生体高分子を含む電解質水溶液から結晶を析出させることを考える。固体素子として、価電子制御されたN型またはP型のシリコン結晶を用いることができる。N型またはP型のシリコン結晶を電解質水溶液にそれぞれ浸漬すると、N型シリコン表面に対してはショットキー障壁が形成される一方、P型シリコン表面に対してはオーミック性接触が得られると考えられる。N型シリコンの表面には、水溶液の電解質濃度に依存した表面電位が発生するとともに、内部に空間電荷層領域が形成される。この空間電荷量は、N型シリコンのドーパント

濃度にも依存する。したがって、電解質水溶液中の負電荷を有する生体高分子は、N型シリコンの有する正の空間電荷を少なくとも補償するまでシリコン表面に凝集し続けることが予想される。一方、P型シリコン表面では、負の電荷を有する分子に対して、シリコン側から常に正孔が供給されるため（オーミック特性）、生体高分子は、常にシリコン表面に凝集し続けることが予想される。よって、空間電荷層領域が形成されるシリコン表面に対しては、生体高分子の凝集、結晶化が制限されて起こるのに比べ、オーミック性接触が生成されるシリコン表面に対しては、生体高分子の凝集が無制限に進行することが考えられる。以上、負の実効電荷を有する分子の結晶化について説明したが、正の実効電荷を有する分子の結晶化の場合、N型シリコンおよびP型シリコンに対して上述と逆のメカニズムで結晶化が進むと考えられる。すなわち、N型シリコン表面では、正の実効電荷を有する分子に対して、シリコン側から豊富な電子が供給されるため（オーミック特性）、分子の凝集が進みやすいと考えられる。一方、P型シリコン表面では、形成される負の空間電荷を補償するまで、分子がシリコン表面に凝集されると考えられる。したがって、P型シリコン表面では、分子の結晶化は制限されると考えられる。

本発明に用いられるN型およびP型のシリコン結晶は、通常のLSIプロセスにて用いられるシリコンウェハと同等の特性を有するものでよい。シリコン結晶の比抵抗は、

0. 0 0 1 ~ 1 0 0 0 Ω c m 程度の範囲内であればよく、
0. 0 0 1 ~ 1 0 0 Ω c m の範囲のものがより望ましい。
またシリコン結晶の表面は、ミラーポリッシュされたものが結晶核の制御を行なう上で好ましい。

- 5 また、表面から内部に向かって、N型およびP型となるように価電子が制御されたシリコン結晶（P型とN型の積層構造）を用いることもできる。この場合、電解質水溶液中において負の実効電荷を有する分子に対し、シリコン表面は順バイアス状態となってシリコン側から常に正孔が表面に供給される。これにより、負の実効電荷を有する分子はシリコン表面に静電的に凝集することになると考えられる。一方、表面から内部に向かってP型およびN型となるよう価電子制御されたシリコン結晶（N型とP型の積層構造）を用いることもできる。この場合、負の実効電荷を有する分子を含む電解質溶液に対して、シリコン表面は逆バイアス状態となるため、PN接合部に空乏層が形成され、したがって空間電荷が発生する。この空間電荷は、価電子制御を行なうのに必要な不純物濃度およびその勾配、さらに表面電位に依存する。よって、負の実効電荷を有する分子は、このシリコンの空間電荷量と補償するまで表面に凝集するものと考えられ、表面から内部に向かってN型およびP型となるよう価電子制御されたシリコンとは異なる結晶成長がなされることが予想される。つまり、順バイアスされたシリコン表面に対しては、分子の凝集が無制限に進
- 10
- 15
- 20

行するのに対し、空間電荷層領域が形成される逆バイアスされたシリコンに対しては、分子の凝集、結晶化が制限されて、電荷が補償されるまで進行することと考えられる。

このような手法に用いられるN型およびP型のシリコン結晶は、通常のLSIプロセスにて用いられるシリコンウェハと同等の特性を有するものでよい。シリコン結晶の比抵抗は、 $0.001 \sim 1000 \Omega \text{ cm}$ 程度の範囲内であればよく、 $0.001 \sim 100 \Omega \text{ cm}$ の範囲のものがより望ましい。また結晶の表面は、ミラーポリッシュされることが余分な結晶核の生成を抑制する上で好ましい。

本発明において、シリコン基板表面に不純物を含有する層を形成する際、当該層の厚みは、望ましくは $0.1 \sim 200 \mu \text{ m}$ であり、より望ましくは $1 \sim 50 \mu \text{ m}$ の範囲である。これ以外の範囲では作製が容易でなかったり、効果的でなくなるため望ましくない。

本発明にて用いられるN型およびP型に価電子制御されたシリコンの作製方法として、種々のものが考えられ、どのような方式のものでもよいが、最も簡便で不純物濃度の制御が正確に行なえる方法として、イオン注入法が挙げられる。この方法の場合、P型およびN型の価電子制御は、それぞれ、周期律表第III族および第V族に属する元素のイオンをシリコン中に注入、アニールすることによって容易に行なうことができる。P型にするための第III族元素としてB、Al、Ga、In、Tl等を挙げることが

でき、特に B が一般的である。N 型にするための第 V 族元素として N、P、As、Sb、Bi 等を挙げることができ、特に P、As、Sb が一般的である。

5 本発明において、PN 接合を生成する際、その厚みは、たとえば次のとおりが好ましい。N 型基板上に P 型シリコン層を形成する場合は、N 型のシリコン表面に P 型のシリコン層を好ましくは $1 \sim 200 \mu\text{m}$ 、より好ましくは $3 \sim 50 \mu\text{m}$ の範囲で形成するのがよい。これ以外の範囲では作製が容易でなかったり、効果がなくなったりするため望ましくない。また P 型基板上に N 型シリコン層を形成する場合も同様であり、P 型シリコンの表面に同様な厚みの N 型層を形成するのが望ましい。

15 また本発明において、価電子制御された固体素子表面からその内部に向かって、等方的あるいは異方的エッチングにより凹状の溝部を設けてもよい。該固体素子には、その内部に、価電子制御のための不純物元素を少なくとも 1 種以上含有させることができる。たとえば、固体をシリコン結晶とし、その表面から内部に向かって N 型、P 型の不純物層を形成し（P 型シリコン上に N 型のドーピング層を形成することと同一）、これをエッチング加工して P 型層に
20 十分到達するように溝を形成することができる。この場合、溝断面には PN 接合に基づく空間電荷層の領域が露出することになる。この固体を、生体高分子を含有する電解質水溶液中に浸漬すると、比重の大きな生体高分子の凝集体は、

固体最表面および溝部に集合して結晶核を形成することになる。そして、溝部の両側壁には、空間電荷層の領域が存在するため、電解質水溶液中の可動電解質イオンおよび水和水に、静電的な引力が作用し、溝部内での対流が抑制されることになる。溶液内での対流速度的変動は、結晶核への分子の拡散律速による供給を変調するため、結晶性に悪影響を及ぼすと考えられている。したがって、このように溝部を形成することにより、溶液内の対流が抑制されるため、表面に規則的に集合する分子の結晶性は向上することが期待される。

本発明において、シリコン等に形成される溝部は、等方性または異方性エッチングによって形成することができる。いずれの方法においても、溝の深さは、表層に形成された不純物層の厚み以上、すなわち、好ましくは $1 \sim 200 \mu\text{m}$ 以上、より好ましくは $3 \sim 50 \mu\text{m}$ 以上の範囲にて形成されるのがよい。これ以外の範囲では、作製が容易でなくなる場合が多い。また、固体素子表面における溝の幅は、生成させるべき結晶のサイズと関係してくるが、通常最大で $1 \sim 2 \text{ mm}$ 程度であればよく、場合によっては 1 mm 以下でもよい。等方性または異方性エッチングとしては、一般的な酸、アルカリの化学薬品を用いた湿式法、および反応ガスを用いたドライエッチング法が適用でき、溝部の形状、幅、および深さに応じてこれらを適宜使い分けることができる。

以上、価電子制御が容易な半導体結晶シリコンを用いた例について説明したが、本目的を達成するため、他の同様の機能を有する物質を適宜用いることができる。また、溶液中において安定であれば、半導体結晶でなくともどのような物質も用いることができ、たとえば電荷分布の制御された無機化合物、有機化合物、有機高分子等を結晶化のための固体素子の候補として挙げるることができる。

本発明の技術は、たとえば、生体高分子の機能を応用した分子デバイスや免疫反応模倣デバイスの作製に応用し得ると考えられる。たとえば、シリコンの固体表面を微細加工し、本発明に従って、各種の生体高分子を表面に固定すれば、たとえばレセプタとして働く生体高分子からの情報を半導体デバイスで検出し、電気的に処理を行なうことのできる装置を提供することができると期待される。シリコンを用いれば、集積回路の技術をそのまま応用することができ、種々の反応のセンシングや信号の制御等がワンチップ化できるといった利点がある。このようなデバイスの提供に当たり、本発明に従う固体素子表面への結晶核の固定および結晶成長のプロセスが有用であると考えられる。

また、生体高分子は、分子間の認識において静電相互作用および立体特異性を利用している。本発明に従う固体素子表面への分子の静電的固定は、上述の静電相互作用に対応させることができる。そして、本発明で固体素子の溝部にこの立体特異性と似た作用を持たせれば、固体素子上で

の特異的な分子の固定、結晶成長が可能となると考えられ、これに基づき、生体高分子を用いた電子デバイスが可能になると期待される。

図 2 および図 3 に、本発明を行なうためのより具体的な装置を示す。

図 2 に示す装置では、容器 1 1 内に緩衝溶液 1 2 が収容され、その中に透析膜チューブ 1 3 が設けられている。透析膜チューブ 1 3 内には、生体高分子を含む母液 1 4 とともに、結晶化制御用の固体素子、たとえば所定の濃度の不純物がドーピングされたシリコン結晶 1 5 が収容されている。透析膜チューブ 1 3 は、パッキン 1 6 で密封され、緩衝溶液 1 2 に浸漬される。容器 1 1 の開口は、フィルム 1 7 によって覆われている。この装置において、透析が進められるとともに、シリコン結晶 1 5 上に母液 1 4 から生体高分子の結晶が析出されていく。

図 3 に示す装置は、容器 2 1（たとえばガラス製）内で、本発明に従い固体素子上に結晶を析出させるものである。容器 2 1 の下部には、緩衝溶液 2 2 が収容される。一方、容器 2 1 の上部には、シリコン結晶 2 5 が載置され、その上に生体高分子を含む母液の液滴 2 4 が載せられる。緩衝溶液 2 2 および液滴 2 4 を載せたシリコン結晶 2 5 を収容する容器 2 1 の開口は、キャップ 2 7 によって密閉される。そして、緩衝溶液 2 2 と液滴 2 4 の間では、両者における揮発成分の蒸発によって、緩やかな平衡が成立しており、

本発明に従いシリコン結晶 2 5 上で生体高分子の結晶析出がなされる。

5 本発明において用いられるシリコン結晶は、たとえば図 4 に示すような構成とすることができる。図 4 (a) に示すシリコン結晶 3 0 では、P 型シリコン 3 1 上に N 型シリコン 3 2 が形成されているか、または N 型シリコン 3 1 上に P 型シリコン 3 2 が形成されている。この積層構造により、PN 接合部が形成される。図 4 (b) に示すシリコン結晶 3 5 では、P 型または N 型シリコン 3 6 上に、N 型または P 型領域 3 7 が、形成されている。いずれにおいても、
10 表面 3 0 a および 3 5 a は、鏡面研磨されていることが好ましい。

上述してきたところからもわかるように、本発明では、固体素子に空間電荷層を形成し、この空間電荷層に基づく
15 表面電位によって、結晶化を制御することができる。表面電位は、たとえば、本発明の固体素子として用いられる半導体基板中の不純物濃度によって制御できる。たとえば図 5 (a) に示すように、高抵抗の半導体基板 7 1 を準備し、図 5 (b) に示すように表面部分に不純物を導入して低抵抗の領域 7 1 a (斜線で示す) を形成することにより、所
20 定の表面電位を示し得る固体素子が得られる。この固体素子において、表面部分の不純物濃度とその内部の不純物濃度は異なり、表面部分に空間電荷層が形成されている。

また、固体素子表面の部位によって表面電位を異ならし

め、それにより、固体素子表面において結晶化に適した表面電位を有する特定の領域で、所望の結晶化を行なうことができる。このような表面電位の設定も、固体素子中に含有される不純物の濃度によって制御することができる。以下、不純物の濃度を変えて固体素子表面での結晶化を制御する具体例について述べていく。

まず、図 6 に示すように、結晶化を制御する固体素子 1 の表面部分において、不純物濃度が高い領域 1 a (斜線で示す) と、不純物濃度が低い領域 1 b とを混在させることができる。固体素子 1 としては、通常、シリコン等の半導体基板が用いられる。不純物濃度は、結晶化の対象となる分子が有する実効表面電荷の極性および荷電量に応じて設定される。結晶化の際に溶媒に接触する表面において、不純物濃度の高い表面領域は、低抵抗であり、不純物濃度の低い表面領域は、高抵抗である。これにより、生体高分子等の有機化合物が静電的な相互作用によって固体素子表面に凝集する際、結晶核の生成が空間的に制御されることになる。すなわち、高抵抗の領域と低抵抗の領域とで、結晶化の態様 (特に結晶化速度) が異なり、いずれかの領域で結晶化を促進させ、残りの領域で結晶化を抑制することができる。これにより、固体素子の特定の場所において、所望の態様の結晶化が可能になる。また、特定の領域で生成された結晶の核は、固体素子表面に固定され、溶媒内の対流等による核の微妙な動きが抑制される。このため、核の

表面に規則的に分子が集合し、結晶性が良好となることが期待される。

不純物濃度の異なる領域を有する固体素子の具体例として、たとえば図 7 に示すものを挙げることができる。図 7 (a) は、低抵抗 N (P) 型シリコン 8 1 内に、高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 の領域が形成されている例である。図 7 (b) は、逆に高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 内に低抵抗 N (P) 型シリコン 8 1 の領域が形成されている例である。図 7 (c) では、低抵抗 N (P) 型シリコン 8 1 上に、高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 のパターンが形成されている。図 7 (d) では、高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 上に低抵抗 N (P) 型シリコン 8 1 の層が形成され、その層の一部に溝 8 3 が形成されている。溝 8 3 の底において、高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 が露出しているため、低抵抗シリコン 8 1 内に高抵抗 N (P) 型シリコンが形成された構成となっている。また、溝は、図 7 (e) に示すような形状とすることができる。図 7 (e) に示す固体素子では、高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 上に V 字形状の溝を有する低抵抗 N (P) 型シリコン 8 1 の層が形成され、溝の底から高抵抗 N (P) 型シリコン 8 2 が覗いている。これら高抵抗の領域および低抵抗の領域は、上述したように、シリコン中に含有される不純物の濃度を制御することによって形成される。

図 7 (a) および (b) に示す固体素子は、通常の半導

体装置の製造プロセス等に従って、シリコン基板表面にレジスト等のマスクを予め形成し、局所的にイオンを注入することによって形成することができる。図7(c)、(d)および(e)に示す固体素子も、通常の半導体装置の製造プロセスにおいて用いられる技術によって作製されるが、これらの場合、シリコン基板表面に、まず全面的にイオンを注入し、その後、レジスト等を用いた局所的なエッチングにより必要なパターンを形成する。溝が形成された固体素子の場合、結晶の核は、平面上よりも溝部内に流れ込み、溝の中で安定化されやすい。したがって、溝によって結晶化が促進される。これらの固体素子の中で、(a)および(b)は、1 μ m以下の微細な領域を形成するのに有利である。一方、それほど微細化の必要がなければ、(c)～(e)でも十分である。また、(c)～(e)では、シリコン表面に溝が形成されているため、たとえばマイクロマシンに結晶化機能を付与する場合などに有利に適用できると考えられる。なお、以上、シリコン基板を用いた例を示したが、他の半導体や価電子制御が可能なその他の材料を用いても、同様の固体素子を得ることができる。

固体素子表面に低抵抗の領域と高抵抗の領域を混在させた場合、次に示すような態様で結晶化を制御できる。まず、固体素子の表面が、均一な抵抗値の表面であった場合、図8(a)に示すように、その表面において結晶の核がランダムに生成し、結晶成長が起こる。このように固体素子表

面の任意の場所において結晶成長が起こると、比較的小さな結晶が多く生成されやすい。一方、図 8 (b) に示すように、低抵抗の領域 9 1 内に、高抵抗の領域 9 2 を点在させると、領域によって結晶の生成の仕方が異なってくる。

5 たとえば、高抵抗の領域に対して結晶化しやすい条件（荷電状態など）を備える物質の場合、高抵抗領域 9 2 で選択的に結晶の核が形成され、他の領域では結晶核の生成は抑制される。したがって、高抵抗領域 9 2 上で選択的に結晶の成長が進み、結晶も比較的大きなものとなる。このよう
10 に、結晶核が生成する場所を限定することで、結晶化の空間的制御が可能となり、また生成される結晶の大きさも制御できるようになる。

また、本発明では、固体素子表面において、不純物濃度が異なる領域を 2 次元的に配列することができる。すなわ
15 ち、固体素子表面内において、所定のパターンで不純物濃度が異なる領域を配置することができる。不純物濃度は、結晶化の対象となる分子の有する実効表面電荷の極性および荷電量に応じて設定される。これにより、結晶化すべき分子が静電的な相互作用によって固体素子表面に凝集する
20 際、分子表面の電荷分布が、溶媒の pH や分子の変性等によって微妙に変化しても、素子表面には、必ず分子の実効表面電荷と補償する空間電荷が誘起されている。そして、結晶核の 2 次元的な生成が容易にかつ優先的に行なわれることが期待される。また、生成された結晶核が素子表面に

固定され、溶媒内の対流等による核の微小な動きを抑制できるため、２次元的に配列された結晶核の表面に規則的に分子が集合し、結晶性が良好となることが期待される。

不純物濃度が異なる領域を２次元的に配列した固体素子の具体例を以下に示す。たとえば、図 9 に示す固体素子では、シリコン基板 9 1 において不純物濃度が高い領域 9 1 a（高不純物領域）の中に、不純物濃度が低い領域 9 1 b（低不純物領域）がマトリックスを形成するように規則的に配列されている。低不純物領域 9 1 b の縦および横の列において、領域の間隔はほぼ等しい。図 1 0 は、図 9 に示す固体素子の一部の断面を示している。シリコン基板 9 1 においてその表面部分に低不純物領域 9 1 b がほぼ等間隔で形成されている。図 1 0 に示す素子の部分における表面電荷密度の分布を図 1 1 に示す。このような固体素子は、たとえば次のようにして作製することができる。図 1 2（a）に示すように、不純物濃度の低いシリコン基板 9 1 を準備し、図 1 2（b）に示すように、その上にレジスト膜 9 2 を形成する。通常の方法によって、レジストパターンを形成し（図 1 2（c））、その後、不純物のイオン注入を行なう（図 1 2（d））。次いで、レジストを除去すれば、高不純物領域 9 1 a 内に低不純物領域 9 1 b が配置された結晶化制御用固体素子が得られる（図 1 2（e））。なお、低不純物領域は、所定の低い濃度で不純物を含む領域だけでなく、不純物をほとんど含まない領域または不純

物を実質的に含まない領域も包含する。

また、図 1 3 に示すようなプロセスによって結晶化制御用固体素子を作製することもできる。不純物濃度の低いシリコン基板 9 1 を準備した後、その表面全体に不純物のイオン注入を行ない、高不純物領域 9 1 a を形成する（図 1 3 (a)、(b) および (c)）。次に、その上に酸化膜 9 3 を形成し（図 1 3 (d)）、その後、レジスト膜 9 2 を堆積してパターンを形成する（図 1 3 (e)）。レジスト膜で覆われていない酸化膜の部分をエッチングによって除去し（図 1 3 (f)）、次いでレジストパターンを除去する（図 1 3 (g)）。酸化膜 9 3 を介して、シリコン基板の高不純物領域 9 1 a を異方性エッチングすることにより、溝 9 4 を形成していく（図 1 3 (h)）。酸化膜を除去することにより、V 字状の溝 9 4 を有する結晶化制御用固体素子が得られる（図 1 3 (i)）。この固体素子では、ほぼ等間隔で形成された溝 9 4 の底から、低不純物領域 9 1 b が覗いており、図 9 に示すと同様に、高不純物領域の中に低不純物領域が配列された構成となっている。以上を示す固体素子では、シリコン基板を用いたが、価電子制御が可能な他の半導体やその他の材料を用いることができる。また、不純物濃度の異なる領域の配列パターンは、対象となる分子の結晶系等に応じて変えることができる。

タンパク質分子の結晶生成に関しては、その核生成の初期過程が重要であるとの報告がなされている。Y o n a t

h等は、Bacillus stearothermophilusより抽出された巨大なリボソームサブユニットの結晶化初期過程を電子顕微鏡により観察している。それによれば、結晶化が進行するためには、初期過程として、
5 各分子が2次元的な規則構造（編み目状、星状、千鳥格子状等）をとって凝集することが必須であると述べている

（Biochemistry International, Vol. 5, 629-636 (1982)）。これがすべての物質に共通して必須であるかどうかは不明であるが、一般にタンパク質分子は分子間相互作用が弱く、しかも分子表面が局部的に帯電しているため、凝集しにくいことを考慮すると、結晶化の初期過程において核となる分子を結晶が形成しやすい状態で2次元的に配列すれば、その後の結晶の成長は、これを核としてエピタキシャル的にスムーズに進行するものと考えられる。
10
15

以上では、不純物濃度が、特定の領域において極端に変化する例を示したが、不純物濃度は、固体素子において段階的にまたは連続的に変化してもよい。図14は、不純物濃度が段階的に変化する具体例を示している。図14に示す固体素子では、高抵抗のシリコン基板101の表面部分に、厚みD（ μm ）で、不純物濃度の異なる3つの領域が形成されている。第1の領域101aが最も不純物濃度が低く、第2の領域101b、第3の領域101cの順で不純物濃度が高くなっている。不純物濃度の高低は、図にお
20

いて垂直線の密度で表現されており、垂直線の密度が最も高い第3の領域101cが最も不純物濃度が高い。図14に示す固体素子における表面位置と不純物濃度との関係、および表面位置と表面電位との関係をそれぞれ図15 (a) および図15 (b) に示す。図15 (a) および図15 (b) において、横軸は固体素子上の位置を示し、縦軸はそれぞれ不純物濃度および表面電位を示している。

一方、以下に示すように、不純物濃度を連続的に変化させることもできる。図16に示す固体素子では、たとえばシリコン等の半導体基板において、不純物濃度の低い高抵抗層112上に、不純物濃度の高い低抵抗層111が形成され、低抵抗層111における不純物は、濃度勾配を有している。すなわち、図の垂直線の密度で示されるように、向かって左側の領域から右側の領域にいくに従って、不純物の濃度は一定の割合で増加している。固体素子の表面位置における不純物濃度の変化を図17 (a) に、表面電位の変化を図17 (b) にそれぞれ示す。図に示すように、不純物濃度は一定の勾配で増加し、表面電位は一定の勾配で減少している。

また、図18に示す固体素子では、高抵抗層112上に形成された低抵抗層121において、中央部に、不純物濃度が最も低い領域が存在し、そこから遠ざかるに従って不純物濃度が高くなっている。表面位置と不純物濃度との関係、表面位置と表面電位との関係をそれぞれ図19 (a)

および図 1 9 (b) に示す。

図 2 0 に示す固体素子では、逆に、高抵抗層 1 1 2 上に形成された低抵抗層 1 3 1 において、中央部に不純物濃度が最も高い領域が形成され、そこから遠ざかるに従って、
5 不純物濃度が低くなっている。この固体素子における表面位置と不純物濃度との関係および表面位置と表面電位との関係を、それぞれ図 2 1 (a) および (b) に示す。

結晶化が進むためには、結晶の元となる核が生成されることが重要である。この核がいたるところにランダムに形成されれば、結晶は比較的小粒なものとなる。一方、図 1
10 4、1 6、1 8 および 2 0 に示すような固体素子では、その表面部分に誘起される空間電荷層に基づく表面電位も、不純物濃度に比例して変化する。このため、固体素子の位置によって静電特性が調整されており、対象となる分子の結晶に適した静電特性の位置が用意されるようになる。し
15 たがって、結晶化すべき分子表面の電荷分布が、溶液の pH や分子の変性によって微妙に変化しても、固体表面のいずれかの部分に必ず分子の実効表面電荷と補償する空間電荷が誘起されるため、結晶核の制御および生成が容易に行
20 なわれる。したがって、以上に示すような固体素子を用いれば、結晶化に都合のよい表面電位を有する場所を中心として、核の生成および結晶成長が進み、大型の結晶が得られることが期待される。すなわち、結晶は所定の場所を中心として大きく成長するようになる。また、生成された結

晶核は、素子表面に固定されており、溶媒内の対流等による核の微小な動きが抑制されるため、核の周りに規則的に分子が集合し、結晶性が良好となることが期待される。なお、図 1 4 および 1 6 に示す固体素子を用いれば、比較的
5 広い面積にわたって、結晶化に適した表面電位を有する領域を作り、そこで結晶を生成するのに適している。一方、図 1 8 および 2 0 に示す固体素子を用いれば、ごく限られた領域で局所的に結晶化を行なうのに適していると考えられる。

10 以上を踏まえ、高抵抗領域と低抵抗領域とを有する N 型シリコンを用い、溶媒中においてマイナスに帯電している分子（たとえばタンパク質分子）を結晶化する場合のメカニズムについて次に述べる。N 型シリコンの場合において、高抵抗基板ではドーパント濃度が低いため、表面近傍に形成される空間電荷層の幅が広くなることより、空乏層容量
15 が小さく、したがってシリコン表面に誘起される表面電位は低抵抗基板の場合と比較して大きくなることが予想される。この表面電位は結晶化すべき分子の有する実効表面電位と極性が逆となるため、静電的な引力の作用により分子
20 の凝集が促進される。したがって、低抵抗シリコン表面の中の限定された領域に高抵抗シリコンの島を形成しておけば、結晶化すべき分子は低抵抗シリコン領域において析出しにくく、高抵抗シリコンの領域に選択的に析出して結晶化が進むことが期待される。また、高抵抗 N 型シリコン基

板上に、不純物濃度が徐々に変化するように、不純物をドーピングし、抵抗が連続的に変化する低抵抗の表面層を形成しておけば、この表面の低抵抗シリコン領域のうち結晶化すべき分子表面の実効電荷とバランスする箇所で選択的に結晶化が行なわれることが期待される。以上、N型シリコンを用いる場合について説明したが、溶媒においてプラスに帯電している分子を結晶化する場合は、P型シリコンを用いて同様のメカニズムで結晶化を制御することができる。

図 2 2 は、上述したシリコン基板とタンパク質分子との間および複数のタンパク質分子との間の電氣的な凝集効果を、電気二重層間の静電相互作用ポテンシャルによって説明する図である。図 2 2 において、曲線 (1) は、同極性 (負極性とする) のタンパク質分子同士のポテンシャルエネルギーであり、常に反発力が働く。一方、曲線 (4) は、タンパク質分子と、N型で低不純物濃度領域のシリコン基板との相互作用エネルギー曲線であり、常に大きな引力が両者に働く。また、タンパク質分子とN型で高不純物濃度領域のシリコン基板との相互作用エネルギー曲線が (3) であり、常に引力が働くがその相互作用エネルギーは曲線 (4) と比較して低くなっている。曲線 (2) は、表面電荷が補償されて表面電位がゼロボルトとなったタンパク質分子と負極性のタンパク質分子との相互作用ポテンシャルカーブである。片方の分子の表面電荷がゼロとなることによって、

常に分子間力に反発力が働く曲線（１）に対し、常に引力が働くようになることがわかる。

以下に本発明についてより具体的に説明するが、本発明の範囲は、以下の具体例によって制限されるものではない。

5 例

例 1

形成される蛋白質結晶のシリコン表面欠陥密度依存性を調べるために、以下の実験を行なった。ニワトリ卵白製リゾチーム（L y s o z y m e , f r o m C h i c k e n
10 E g g W h i t e）を $pH = 9.18$ の標準緩衝溶液に溶解し、 50 mg/ml の濃度とし、その 3 ml を十分煮沸洗浄された透析チューブ内にシリコン結晶とともに封入した。シリコン結晶は以下に示す４種類のものを用いた。P型シリコンの比抵抗はすべて $10 \sim 20 \Omega \text{ cm}$ である。

15 (1) エピタキシャルウェハ：P on P⁺，表面酸化膜約 50 nm 付

(2) エピタキシャルウェハ：P on P⁺，表面酸化膜除去したもの

(3) CZウェハ：P型，表面酸化膜約 50 nm 付

20 (4) CZウェハ：P型，表面酸化膜除去したもの

CZシリコンウェハ（チョクラルスキー法により引上げたシリコン単結晶のウェハ）の表面結晶欠陥は、単位平方センチメートル当たり 10 個程度であるのに対し、エピタキシャルシリコンウェハの表面欠陥はほとんどないため、

この両者の結晶を用いることによって、蛋白質結晶成長の表面欠陥密度依存性を調べることができる。上記(1)～(4)のシリコン結晶を約 2×5 mm角のサイズに切出し、リゾチームを含む透析チューブ内に浸漬した。さらに、これら
5 の透析チューブを $pH = 8.9$ の標準緩衝溶液(200 ml)中に浸し、 $10^\circ C$ の冷暗所内に保管した。結晶析出のための装置は、たとえば図2に示すとおりである。

冷暗所に72時間保管後、試料を取出し、顕微鏡によってリゾチームの結晶を観察した。図23～図26は、以上の実施例の結果を示したものである。図23は(1)、図24は(2)、図25は(3)、図26は(4)のシリコン結晶を用いたものにそれぞれ対応する。図から明らかなように、結晶表面の欠陥の有無は、リゾチームの結晶核の形成および結晶成長に全く影響を及ぼさないことがわかる。
10

15 例2

例1と同様の濃度のリゾチームの水溶液を用いて、以下の実験を行なった。シリコン結晶として次に示すものを作製した。

(1) P型基板上にN型シリコン層を形成した試料
20 $10 \sim 20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗のP型シリコンウェハに、ドーズ量として $10^{13} / \text{cm}^2$ のリンをイオン注入した後、 $1150^\circ C$ 8時間、窒素中にてアニールしN型層を形成した。N型層の比抵抗は $0.1 \sim 1.0 \Omega \text{ cm}$ 、層の深さは $3 \sim 4 \mu \text{ m}$ であった。この試料をサンプル-1とする。

(2) N型基板上にP型シリコン層を形成した試料
5 ~ 10 Ω cmの比抵抗のN型シリコンウェハに、ドー
ズ量として $10^{13}/\text{cm}^2$ のホウ素をイオン注入した後、
1150°C 8時間、窒素中にてアニールしP型層を形成し
た。P型層の比抵抗は0.1 ~ 1.0 Ω cm、層の深さは
3 ~ 4 μ mであった。この試料をサンプル-2とする。

以上の(1)、(2)のシリコンを約2×5 mm角のサ
イズに加工し、洗浄した後、リゾチームの水溶液3 mlと
ともに透析チューブ内に封入した。外液の標準緩衝溶液の
pHは6.9および4.01とした。

図27~図30に、10°Cの冷暗所内に72時間保管し
た後、シリコン上で成長したリゾチームの結晶について結
果を示す。図27は、サンプル-1およびpH 6.9の緩
衝液を用いた結果であり、図28は、サンプル-1および
pH 4.01の緩衝液を用いた結果であり、図29は、サ
ンプル-2およびpH 6.9の緩衝液を用いた結果であり、
図30は、サンプル-2およびpH 4.01の緩衝液を用
いた結果である。

(1) サンプル-1

pH = 6.9の緩衝溶液により透析を行なった場合には、
ウェハ表面上には無秩序にリゾチームの結晶が析出するこ
とがわかる。またpH = 4.01の緩衝溶液を用いた場合
には、同様に結晶サイズは若干大きいものの、やはり無秩
序にリゾチームの結晶が析出することがわかる。

(2) サンプル - 2

pH = 6.9 の緩衝溶液により透析を行なった場合には、
0.5 mm 前後のサイズの大きなリゾチームの結晶が析出
する。また pH = 4.01 の緩衝溶液を用いた場合には、
5 やはり 0.5 mm 程度の大きなリゾチームの結晶が析出
する。以上より、サンプル - 2 ではサンプル - 1 と比較して、
結晶成長が良好であり、シリコン基板の価電子制御、この
場合シリコンウェハへのドーピングの制御により N 型シリ
コンウェハに P 型層を形成することによって、結晶成長の
10 制御が可能であることを示している。

以上の実施例に示した結果より、価電子制御された半導
体結晶表面において、生体高分子の結晶化を制御できるこ
とがわかった。

例 3

15 例 1 と同様の濃度のリゾチームの水溶液を用いて、以下
の実験を行なった。シリコン結晶として次に示すものを作
製した。

(1) P 型 CZ ウェハ (酸化膜除去したもの)、比抵
抗 = 10 ~ 20 Ω cm

20 (2) N 型 CZ ウェハ (酸化膜除去したもの)、比抵
抗 = 4 ~ 8 Ω cm

以上の (1) ~ (2) のシリコンを約 2 × 5 mm 角のサ
イズに加工し、洗浄した後、リゾチームの水溶液 3 ml と
ともに透析チューブ内に封入した。外液の標準緩衝溶液の

pHは9.1および6.9の2種類とした。

図31～図34に、10℃の冷暗所内に72時間保管した後のシリコン上で成長したリゾチームの結晶について結果を示す。図31は(1)のシリコンおよびpH9.1の条件、図32は(2)のシリコンおよびpH9.1の条件、図33は(1)のシリコンおよびpH6.9の条件、図34は(2)のシリコンおよびpH6.9の条件にそれぞれ相当する。

pH=9.1の緩衝溶液により透析を行なった場合には、P型CZウェハ表面上に、無秩序にリゾチームの結晶が析出する。一方、N型CZウェハ表面上には、比較的大型の結晶のみが少量析出していることがわかる。また、pH=6.9の場合には、P型、N型ともに無秩序に結晶成長しており、有意差がないことがわかる。以上の結果より、pH=9.1の場合には、リゾチーム分子内の親水性アミノ酸のうち酸性基であるカルボキシル基が主に解離するため、分子全体としては負電荷を有することになり、非オーミック性のN型シリコン表面に対して空間電荷を補償するように表面にリゾチーム分子が凝集、結晶化することが推察できる。一方、pH=6.9の中性の緩衝溶液の場合には、リゾチーム分子はほとんど静電的に正と負が釣り合っており、P型、N型両シリコン表面に対してオーミック性を有するため、結晶成長が無秩序に進行しているものと推察される。

以上の実施例に示した結果より、結晶化すべき生体高分子表面の電荷分布は、溶液のpHによって変化するため、その特性に応じて価電子制御を行なった半導体基板を用いることが生体高分子の結晶化制御に有効であることがわかる。

次に、溝を形成した固体を用いる例を示す。溝は、たとえば図35に示すようにして形成することができる。まずシリコン基板41を準備する(図35(a))。次いで基板41上にSiO₂膜42を形成する(図35(b))。SiO₂膜42をエッチングして所定のパターンとした(図35(c))後、たとえば通常の異方性エッチングによりシリコン基板をエッチングする(図35(d))。次いでSiO₂膜を除去することにより、溝43を有するシリコン基板41'が得られる。

例4

例1と同様の濃度のリゾチームの水溶液を用いて、以下の実験を行なった。シリコン結晶として次に示すものを作製した。

(1) N型基板上にP型シリコン層を形成したサンプル

5~10Ωcmの比抵抗のN型シリコンウェハに、ドーズ量として $10^{13}/\text{cm}^2$ のホウ素をイオン注入した後、1150℃8時間、窒素中にてアニールしP型層を形成した。P型層の比抵抗は0.1~1.0Ωcm、層の深さは

3 ~ 4 μm であった。この試料をサンプル - 1 とする。

(2) N型基板上にP型シリコン層を形成した後、化学エッチングによって凹状の溝部を形成したサンプル

5 5 ~ 10 Ωcm の比抵抗のN型シリコンウェハに、ドー
ズ量として $10^{13}/\text{cm}^2$ のホウ素をイオン注入した後、
1150 $^{\circ}\text{C}$ 8時間、窒素中にてアニールしP型層を形成し
た。P型層の比抵抗は0.1 ~ 1.0 Ωcm 、層の深さは
3 ~ 4 μm である。その後、熱CVD装置によりサンプル
10 表面に約200nmの SiO_2 膜を形成し、次いで表面の
 SiO_2 膜をエッチングして、ライン&スペースがそれぞ
れ500 μm のパターンを形成した。これを水酸化カリウ
ム(KOH)水溶液中に浸漬して異方性エッチングにより
V字型の溝部を形成した。溝部の深さは5 μm とした。最
後に表面の SiO_2 膜を除去してシリコンを表面に露出さ
15 せた。以上のようにして得られた試料をサンプル - 2 とす
る。

以上の(1)、(2)のシリコンを約2 × 5 mm角のサ
イズに加工し、洗浄した後、リゾチームの水溶液3mlと
ともに透析チューブ内に封入した。外液の標準緩衝液のp
20 Hは25 $^{\circ}\text{C}$ で9.01とした。

図36および図37に、10 $^{\circ}\text{C}$ の冷暗所内に50時間保
管した後、シリコン上で結晶成長したリゾチームの結果を
示す。図36はサンプル - 1を用いたもの、図37はサン
プル - 2を用いたものにそれぞれ対応する。

(1) サンプル - 1

ウェハ表面上に析出するリゾチームの結晶の中には、単結晶のものも存在するが、双晶のものもかなり多い。これは、水溶液中での電解質溶液の対流によって不均一な核形成が起こったためであると考えられる。

(2) サンプル - 2

0.1 mm 前後のサイズのリゾチーム単結晶が析出する。この場合には、双晶は存在せず、したがって結晶化が良好に進行したものと推察される。

10 以上より、サンプル - 2 ではサンプル - 1 と比較して結晶成長が良好であり、溝の形成により結晶生成が制御可能であることを示している。

15 以上の実施例に示した結果より、価電子制御された半導体結晶表面において生体高分子の結晶化を制御できることがわかる。

例 5

20 例 1 で用いたニワトリ卵白製リゾチームを $pH = 9.1$ の標準緩衝溶液に溶解し、 50 mg/ml の濃度とし、その 3 ml を十分煮沸洗浄された透析チューブ内にシリコン結晶とともに封入した。シリコン結晶は以下に示す 2 種類のものを用いた。

(1) 低不純物濃度（高抵抗）N 型シリコンのサンプル（サンプル - 1）。

約 $20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗の N 型シリコン基板。

(2) 低不純物濃度および高不純物濃度（高抵抗および低抵抗）領域の混在したN型シリコンのサンプル（サンプル-2）。

2 mm角の領域を交互に高抵抗（約 $20 \Omega \text{ cm}$ ）、低抵抗（約 $0.1 \Omega \text{ cm}$ ）としたN型シリコン基板。高抵抗N型基板上に常法に従ってリン原子のイオン注入によって低抵抗領域を作製した。

上記(1)および(2)のシリコン結晶を約 $5 \times 10 \text{ mm}$ 角のサイズに切出し、リゾチームを含む透析チューブ内に浸漬した。さらに、これらの透析チューブを $\text{pH} = 8.9$ の標準緩衝溶液（ 200 ml ）中に浸し、 10°C の冷暗所内に保管した。結晶析出のための装置は、たとえば図2に示すとおりである。

冷暗所に72時間保管後、試料を取出し顕微鏡によってリゾチームの結晶を観察した。図38~40は、以上の実施例の結果を示したものである。図38は、サンプル-1のシリコン基板を用いた結晶化の結果を示している。図39および40は、サンプル-2のシリコン基板を用いた結果で、図39は高抵抗領域での結晶化の結果、図40は低抵抗領域での結晶化の結果をそれぞれ示している。図から明らかなように、サンプル-1ではシリコン基板全面にリゾチームの結晶が多量に析出する。一方、サンプル-2では、高抵抗領域ではサンプル-1と同様に多量の結晶が前面に析出するが、低抵抗領域では、結晶はわずかに析出す

るのみである。

例 6

例 1 で用いたニワトリ卵白製リゾチームを $pH = 7.0$ の標準緩衝溶液に溶解し、 30 mg/ml の濃度とし、その 5 ml を十分煮沸洗浄された透析チューブ内にシリコン結晶とともに封入した。シリコン結晶は以下に示す 2 種類のものを用いた。

(1) 低不純物濃度（高抵抗）N 型シリコンのサンプル（サンプル - 1）。

約 $20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗の N 型シリコン基板。

(2) 低不純物濃度および高不純物濃度（高抵抗および低抵抗）領域の混在した N 型シリコンのサンプル（サンプル - 2）。

約 $20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗を有する N 型高抵抗シリコン基板上に、図 13 に示す方法によって約 $1 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗を有する低抵抗 N 型領域を形成した。低抵抗 N 型領域表面内に露出した高抵抗領域は、そのサイズが $0.05 \mu \text{m}$ 径、領域間のピッチが $0.2 \mu \text{m}$ であった。シリコン基板表面全体にわたって、低抵抗 N 型領域の中に高抵抗領域を形成した。なお、表面低抵抗層の厚みは約 $3 \mu \text{m}$ であった。

上記 (1) および (2) のシリコン結晶を約 5 mm 角のサイズにそれぞれ切出し、リゾチームを含む透析チューブ内に浸漬した。さらに、これらの透析チューブを $pH = 4.6$ の標準緩衝溶液 200 ml と 1 M の NaCl 水溶液 20

m l を混合した水溶液中に浸漬し、10℃の冷暗所内に保管した。

冷暗所に96時間保管後、試料を取出し顕微鏡によってリゾチームの結晶を観察した。サンプル1ではシリコン
5 基板全面にリゾチームの結晶が無秩序に多量に析出した。
析出した結晶の平均的なサイズは約0.1mmであった。
一方、サンプル2では、析出結晶量はわずかになり、かつ平均的な結晶のサイズは約0.3mmとなった。サンプル2において、少量の比較的大きな結晶が生成したのは、
10 低抵抗領域において結晶の生成が抑制される一方、高抵抗領域に結晶の核となる析出物が選択的に凝集・集合し、これが大きな結晶にまで成長したためであると考えられる。

例7

例1で用いたニワトリ卵白製リゾチームをpH=9.1
15 8の標準緩衝溶液に溶解し、30mg/mlの濃度とし、その3mlを十分煮沸洗浄された透析チューブ内にシリコン結晶とともに封入した。シリコン結晶は以下に示す2種類のものを用いた。

(1) 低不純物濃度(高抵抗)N型シリコンのサンプル(サンプル1)。
20

約20Ωcmの比抵抗のN型シリコン基板。

(2) 低不純物濃度および高不純物濃度(高抵抗および低抵抗)領域の混在したN型シリコンのサンプル(サンプル2)。

約 $20 \Omega \text{ cm}$ の比抵抗を有する N 型シリコン基板上に、
図 14 に示すように、 2 mm 角の領域の表面を順次約 $10 \Omega \text{ cm}$ 、約 $1 \Omega \text{ cm}$ 、約 $0.1 \Omega \text{ cm}$ と 3 種類の低抵抗値
5 に形成したものである。高抵抗 N 型基板上にリン原子のイオン注入によって低抵抗領域をそれぞれ作製した。表面低抵抗層の厚みは約 $3 \mu \text{ m}$ であった。

上記 (1) および (2) のシリコン結晶を約 $5 \times 10 \text{ mm}$ 角のサイズに切出し、リゾチームを含む透析チューブ内に浸漬した。さらに、これらの透析チューブを $\text{pH} = 8.9$ の標準緩衝溶液 (200 ml) 中に浸し、 10°C の冷暗
10 所内に保管した。

冷暗所に 96 時間保管後、試料を取出し顕微鏡によってリゾチームの結晶を観察した。図 41 ~ 44 は、以上の実施例の結果を示すものである。図 41 は、サンプル 1 の
15 シリコン基板を用いた結晶化の結果を示している。図 42 ~ 44 は、サンプル 2 のシリコン基板を用いた結果で、図 42 は、比抵抗約 $10 \Omega \text{ cm}$ の領域での結果、図 43 は、比抵抗約 $1 \Omega \text{ cm}$ の領域での結果、図 44 は、比抵抗約 $0.1 \Omega \text{ cm}$ の領域での結果をそれぞれ示している。図から明
20 らかなように、サンプル 1 では、シリコン基板全面にリゾチームの結晶が多量に析出する。一方、サンプル 2 において、高抵抗領域ではサンプル 1 と同様に多量の結晶が前面に析出するが、低抵抗の領域になるに従って、析出結晶量はわずかになり、かつ結晶のサイズも増大している。

このようにシリコン基板の価電子制御、この場合高抵抗N型基板の所定の位置に不純物をドーピングし、低抵抗領域を作製することにより、結晶の生成を制御可能であることがわかる。

5 産業上の利用可能性

以上説明したように、本発明によれば、上述したように多様な特性を有するためどの物質に対しても適応できる手法がなく試行錯誤を繰返しながら進められてきた従来の結晶化プロセスの欠点を解決することができる。本発明は、
10 特に結晶化が困難な蛋白質等の生体高分子について、より適切な結晶化の条件を提供することができる。本発明によれば、特に疎水性領域および親水性領域を有する膜蛋白質など、これまで結晶化が困難であった蛋白質について結晶化の条件を提供することができると考えられる。本発明は、
15 たとえば、結晶の核となる種結晶を容易に生成する条件を提供することができる。生成された種結晶は、より大きな結晶を形成するため、よりよい条件下に移すことができる。一方、本発明によれば、結晶化の初期過程における核形成を安定化させ、微結晶の大量生成を抑制、制御することができる。この場合、微結晶の生成を抑制してより大きな結晶を生成させることができる。
20

本発明は、製薬産業や食品産業等において、有用な物質、特に蛋白質、核酸等の生体高分子の研究、開発および製造に適用される。本発明によれば、X線構造解析を可能にす

る結晶性の良好な結晶を成長させることができる。結晶解析の結果、その分子構造および活性のメカニズムについて得られる情報は、薬剤の設計および製造に生かされる。また、本発明は、関心のある分子の精製または結晶化に適用
5 される。さらに、本発明は、蛋白質等の生体高分子を用いた電子デバイスの作製に応用が期待される。

今回開示された実施の形態はすべての点で例示であって制限的なものではないと考えられるべきである。本発明の範囲は上述した説明ではなく請求の範囲によって示され、
10 請求の範囲と均等の意味および範囲内でのすべての変更が含まれることが意図される。

請求の範囲

1. 溶媒中に含まれる有機化合物の結晶化を制御するための方法であって、

5 前記有機化合物を含む前記溶媒の環境に応じて表面部分の正孔または電子の濃度を制御できるように価電子が制御された固体素子を与える工程と、

前記固体素子を前記有機化合物を含む前記溶媒に接触させ、前記固体素子の表面において前記有機化合物の結晶を析出させる工程とを備え、

10 前記制御された価電子により前記固体素子の表面にもたらされる電気的狀態によって、前記有機化合物の結晶化が制御される、方法。

2. 前記固体素子に空間電荷層が形成され、前記空間電荷層に基づく表面電位によって、前記有機化合物の結晶化が
15 制御される、請求項 1 記載の方法。

3. 前記電気的狀態は、前記固体素子中にドーピングされる不純物の濃度によって制御される、請求項 1 記載の方法。

4. 前記表面電位は、前記固体素子中にドーピングされる不純物の濃度によって制御される、請求項 2 記載の方法。

20 5. 前記固体素子中に含有される前記不純物の濃度は、前記固体素子の表面部分と内部とで異なっている、請求項 3 または 4 記載の方法。

6. 前記固体素子の表面部分において、第 1 の所定領域から第 2 の所定領域まで、前記不純物の濃度が連続的または

段階的に減少または増加している、請求項 3 ～ 5 のいずれか 1 項記載の方法。

7. 前記固体素子の表面部分において、前記不純物の濃度が特定の領域において極大もしくは最大または極小もしくは
5 は最小となっている、請求項 3 ～ 5 のいずれか 1 項記載の方法。

8. 前記固体素子の表面部分は、不純物濃度の異なる第 1 の領域と第 2 の領域を少なくとも有し、前記第 1 の領域と第 2 の領域のいずれかで、前記結晶化が促進され、その残
10 りの領域で前記結晶化が抑制される、請求項 3 ～ 5 のいずれか 1 項記載の方法。

9. 前記固体素子の表面部分において、前記第 1 の領域と前記第 2 の領域が 2 次元的に配列されている、請求項 8 記載の方法。

15 10. 前記電気的狀態を前記固体素子表面の部位によって異ならしめ、それにより、前記固体素子表面の特定の領域で所望の結晶化を行なう、請求項 1 ～ 9 のいずれか 1 項記載の方法。

11. 前記固体素子が溝を有し、前記溝において、前記有機化合物の結晶が析出される、請求項 1 ～ 10 のいずれか
20 1 項記載の方法。

12. 前記固体素子が半導体基板である、請求項 1 ～ 11 のいずれか 1 項記載の方法。

13. 前記半導体基板が P N 接合を有する、請求項 12 記

載の方法。

14. 前記固体素子がPN接合を有する半導体基板であり、前記溝において前記PN接合部が露出している、請求項1記載の方法。

5 15. 前記固体素子がシリコン基板である、請求項1～14のいずれか1項記載の方法。

16. 前記有機化合物が生体高分子である、請求項1～15のいずれか1項記載の方法。

10 17. 前記有機化合物が蛋白質である、請求項1～16のいずれか1項記載の方法。

18. 前記溶媒が電解質溶液である、請求項1～17のいずれか1項記載の方法。

19. 請求項1～18のいずれか1項記載の方法に用いる結晶化制御用固体素子であって、

15 溶媒中に含まれる有機化合物の結晶化を制御するため、所定の表面電位をもたらすよう、少なくとも表面部分に不純物が添加されている半導体基板を備える、固体素子。

20. 前記半導体がシリコンである、請求項19記載の固体素子。



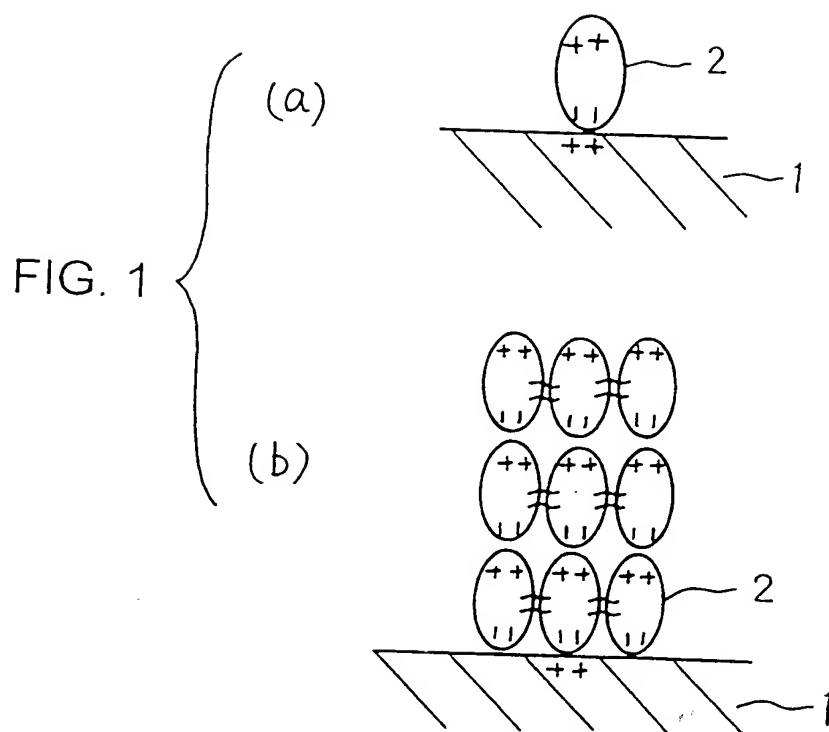


FIG. 2

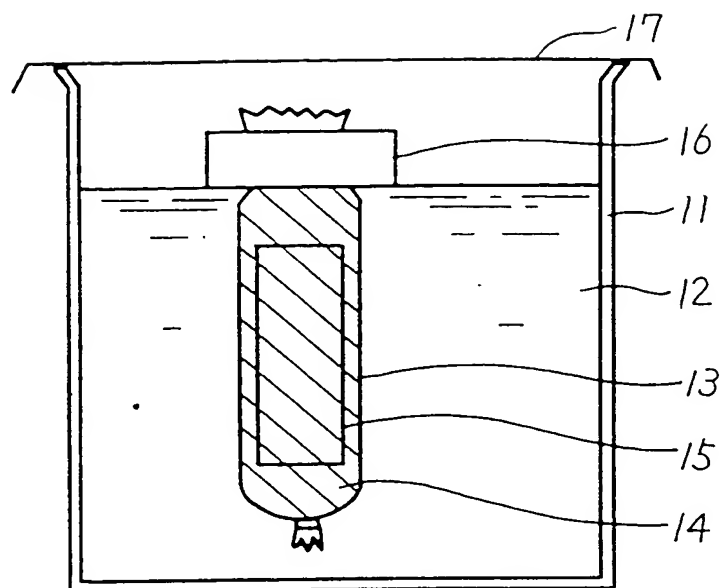
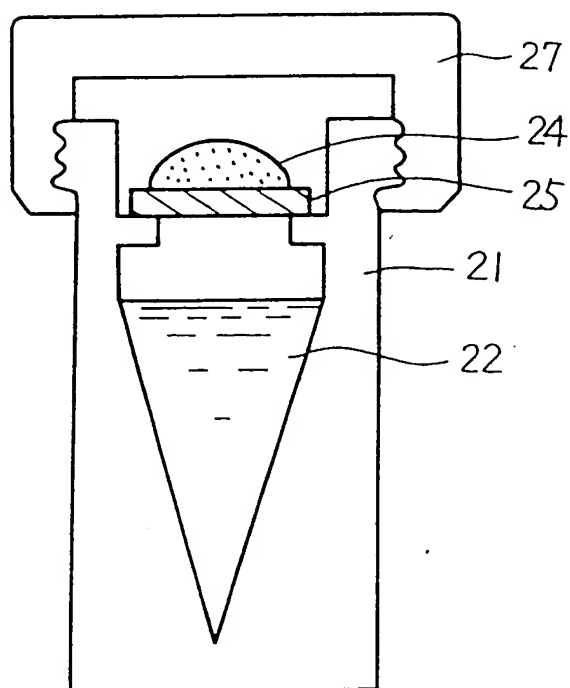


FIG. 3



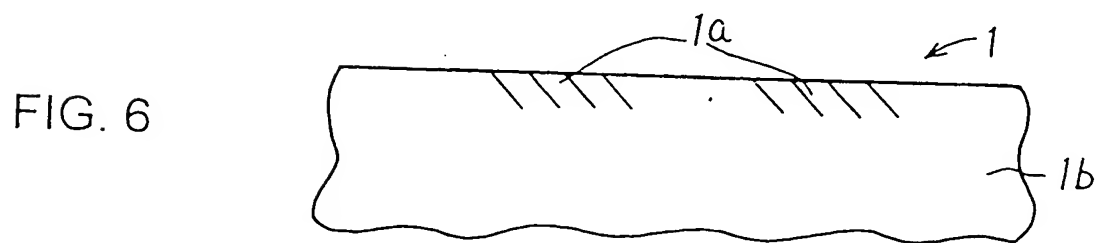
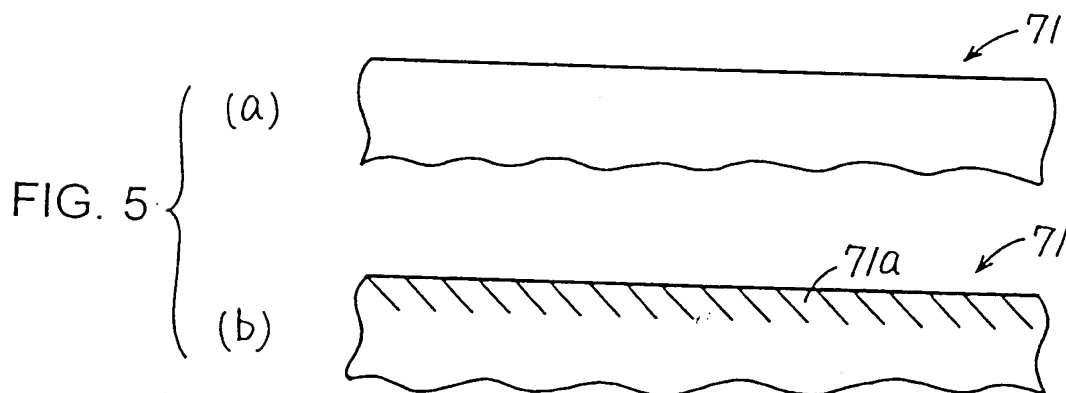
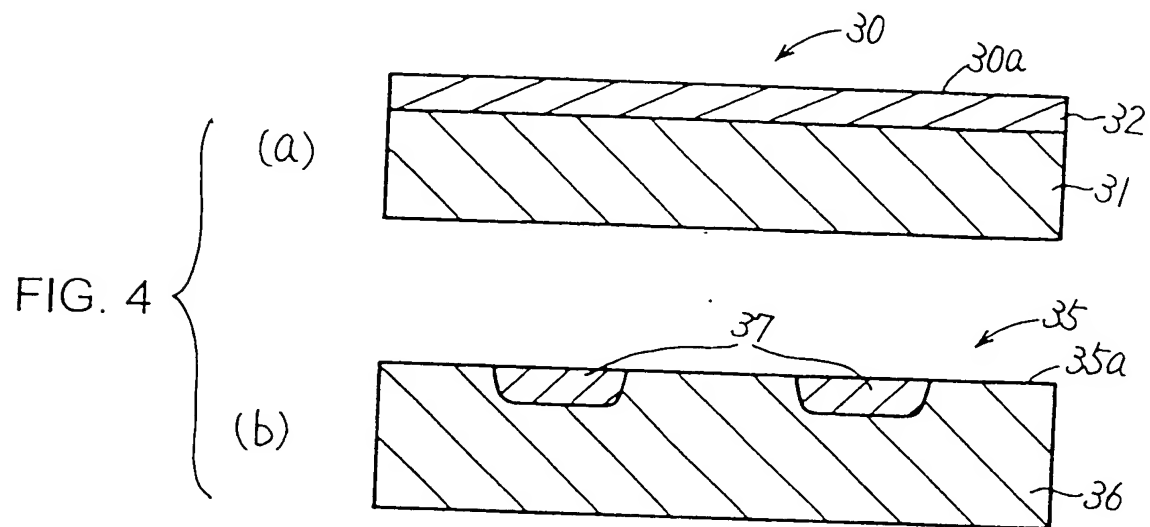
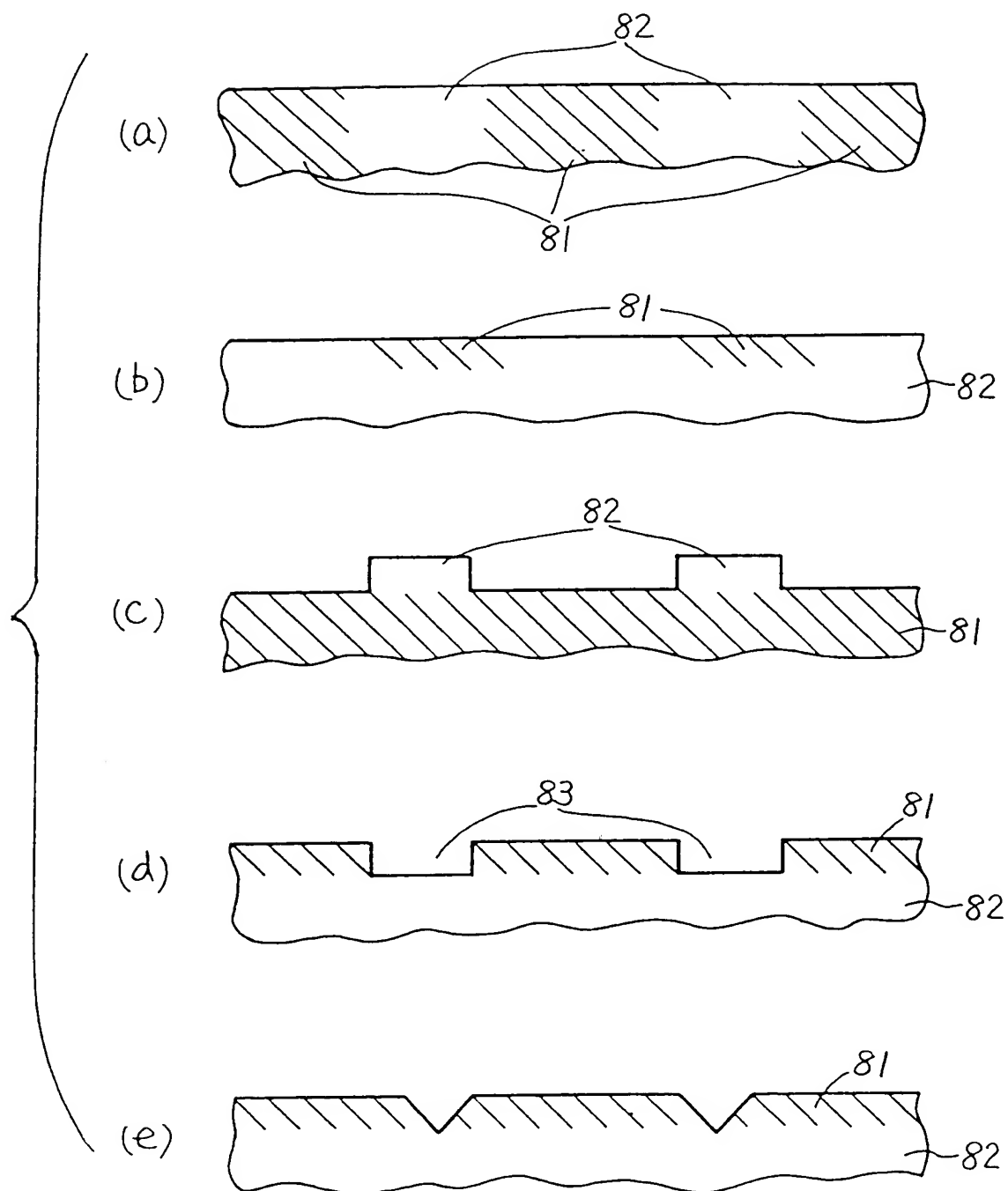


FIG. 7



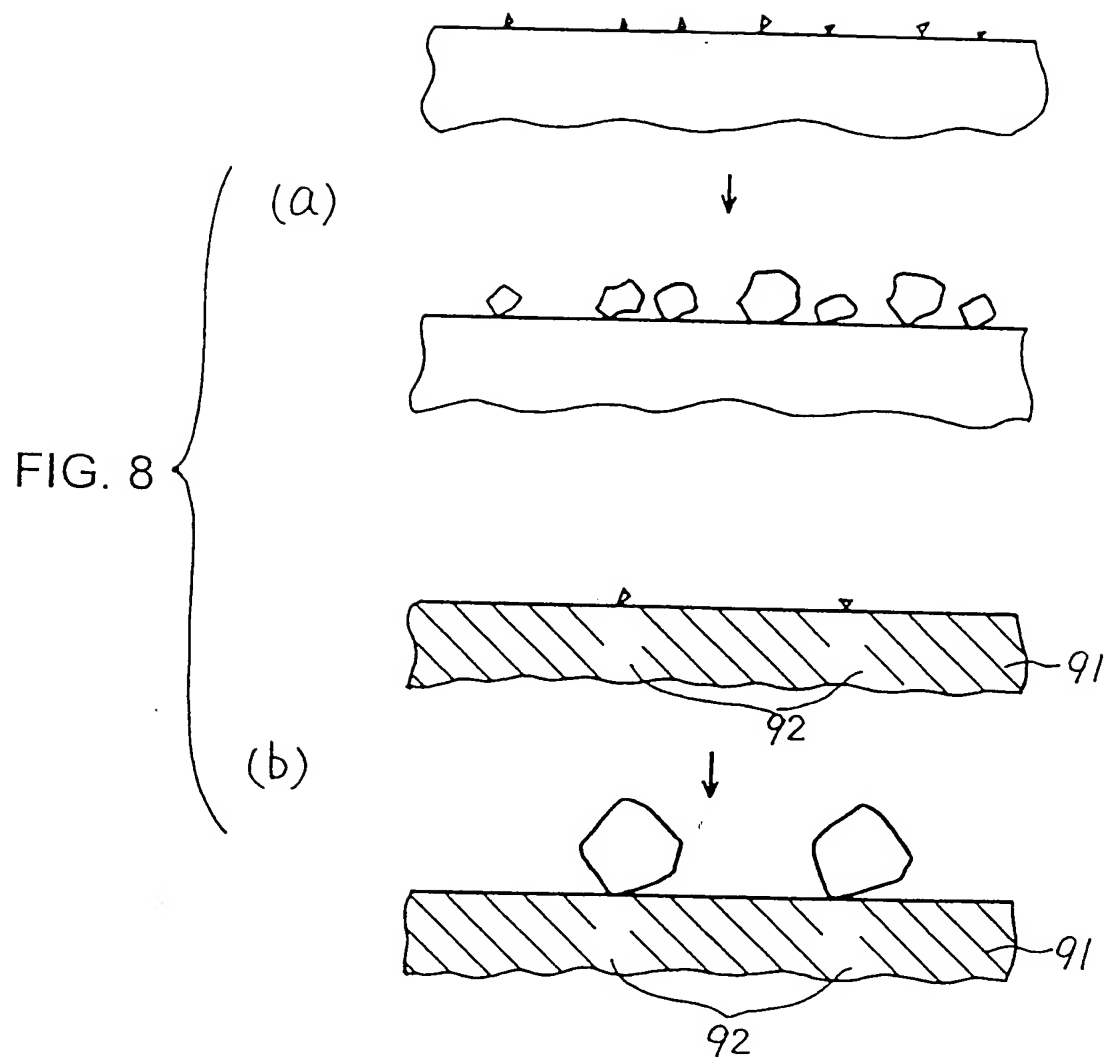


FIG. 9

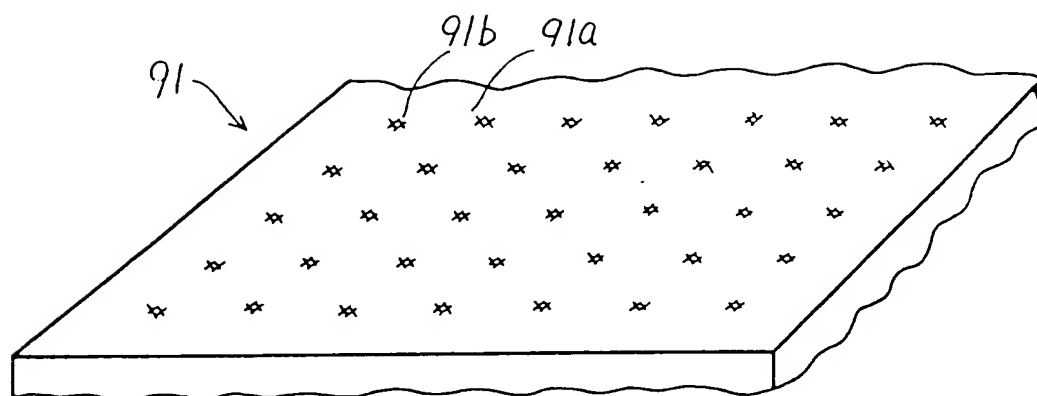


FIG. 10

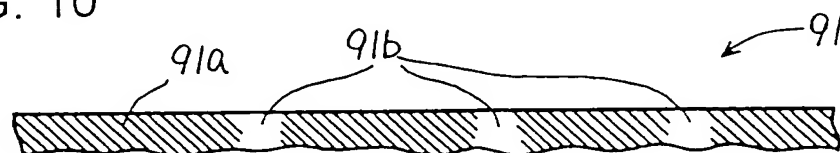


FIG. 11

表面電荷密度分布

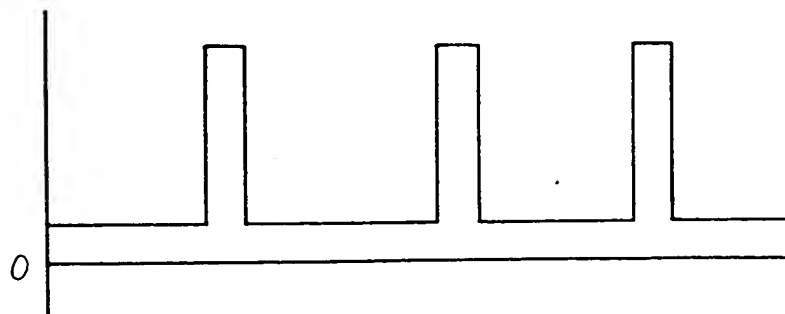


FIG. 12

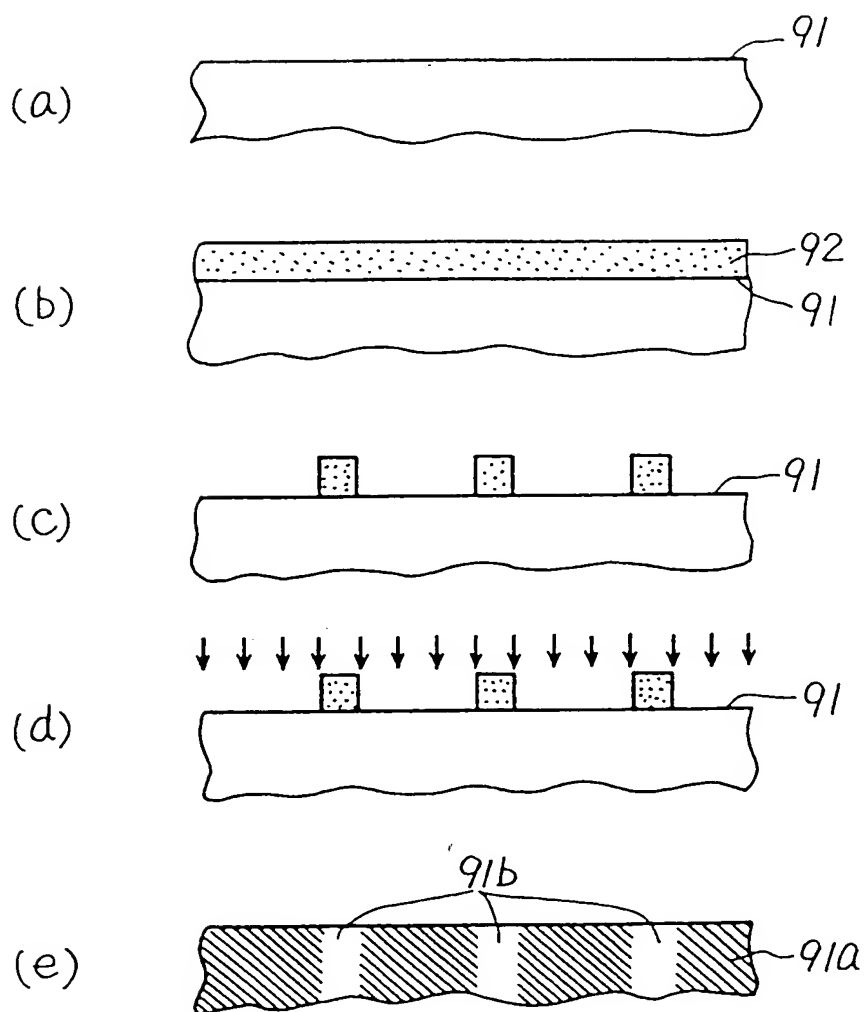


FIG. 13

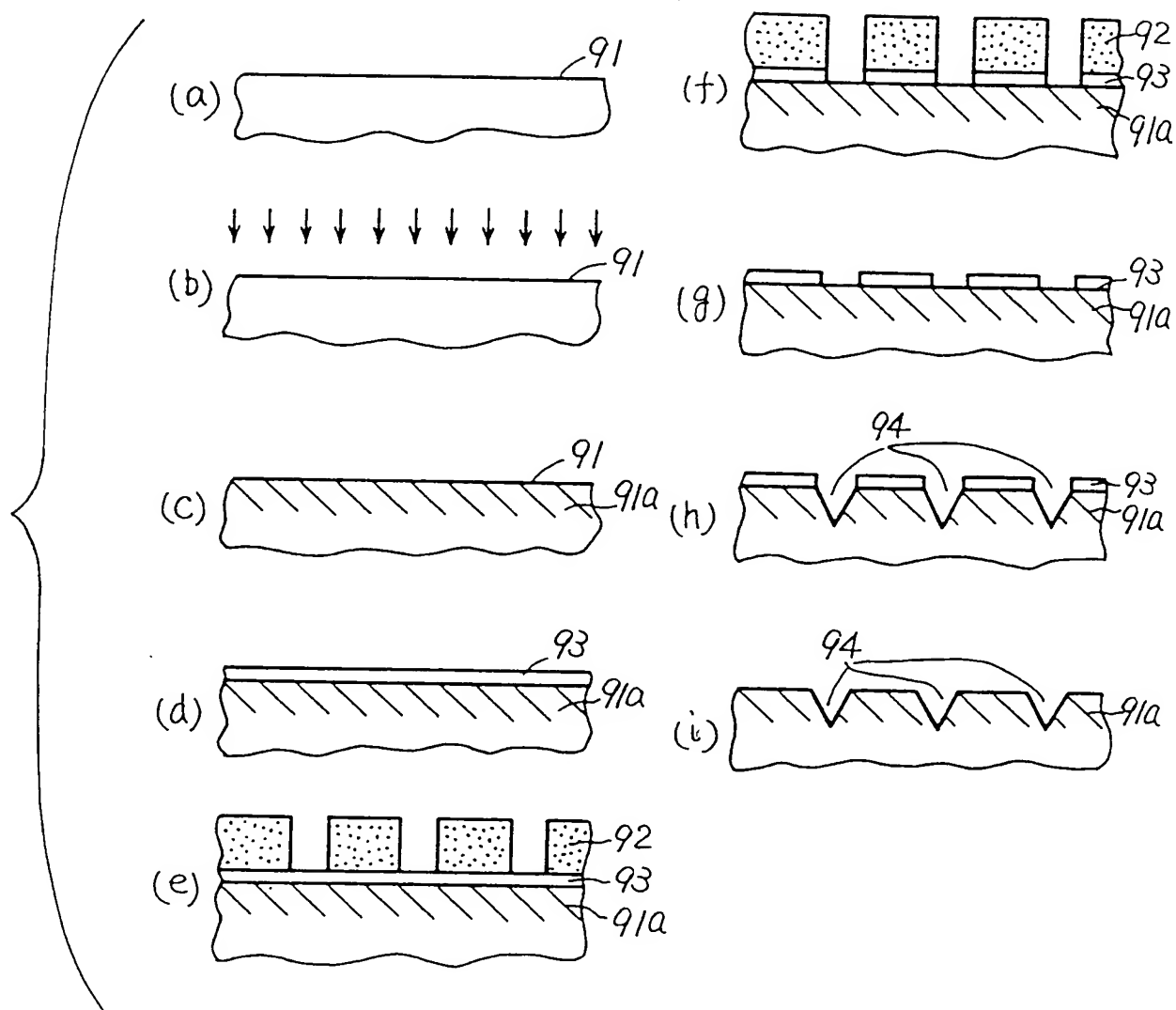


FIG. 14

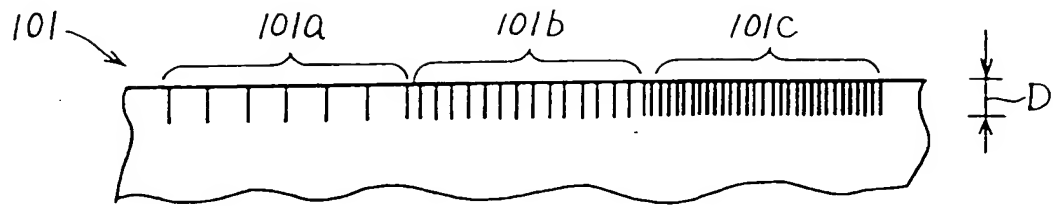


FIG. 15

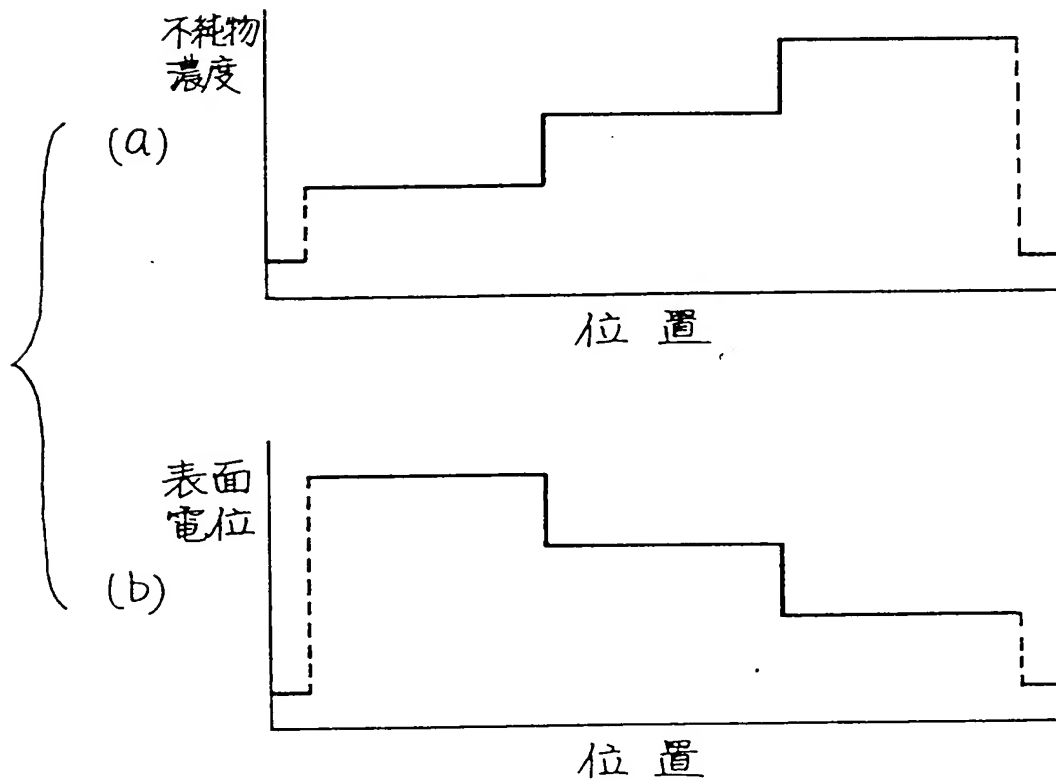


FIG. 16

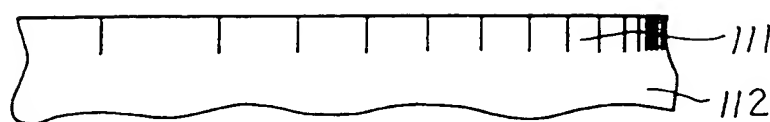


FIG. 17

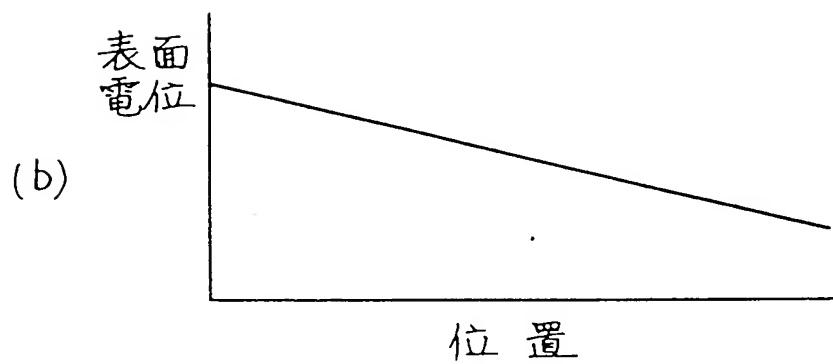
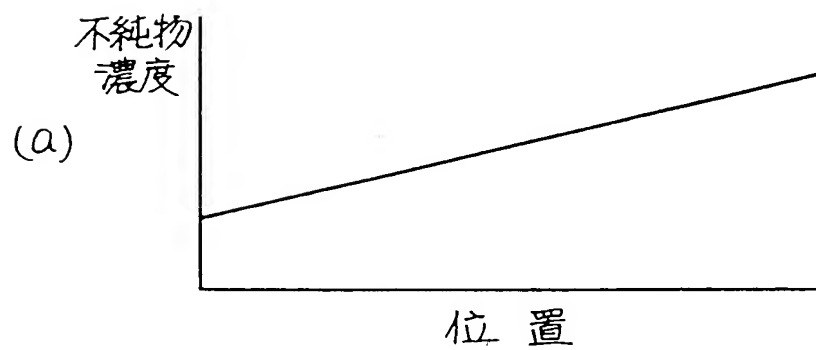


FIG. 18

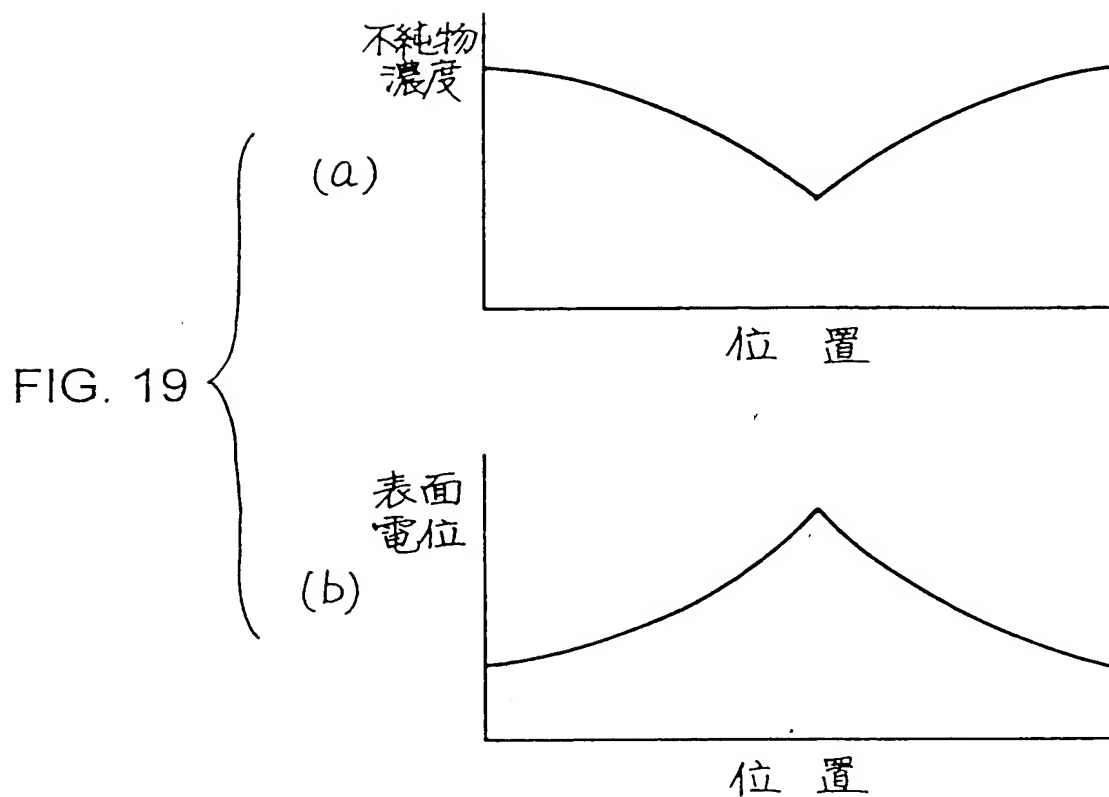
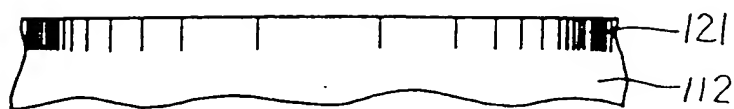


FIG. 20

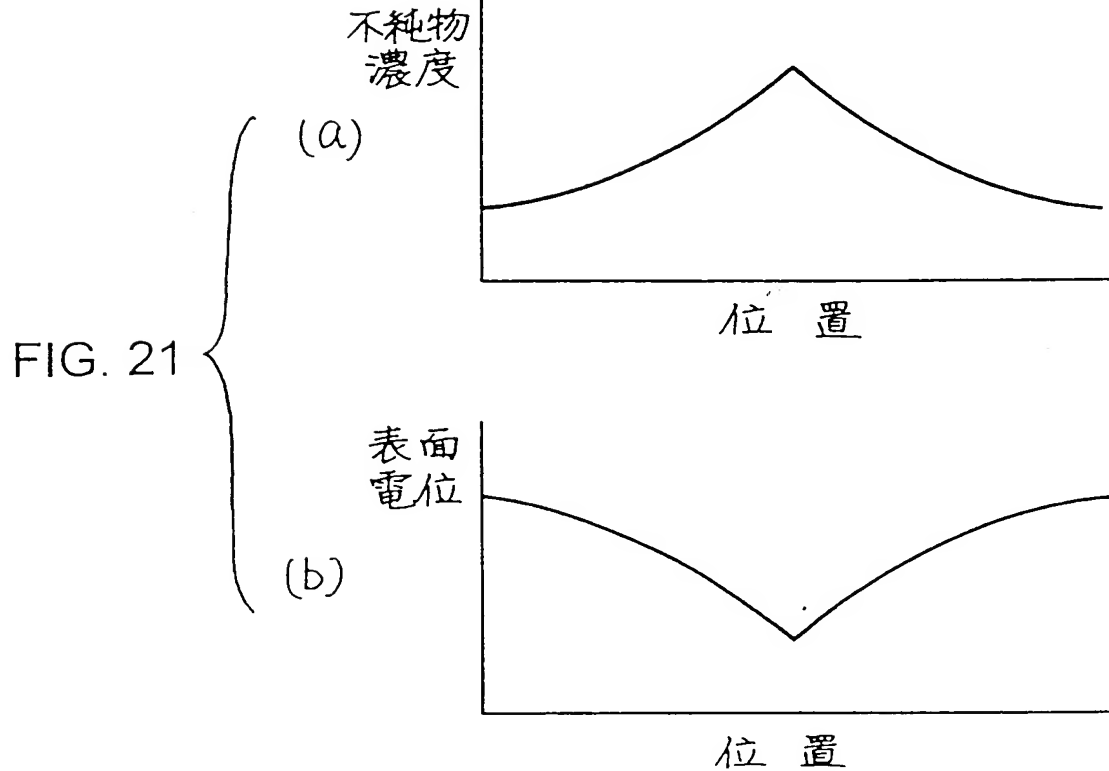


FIG. 22

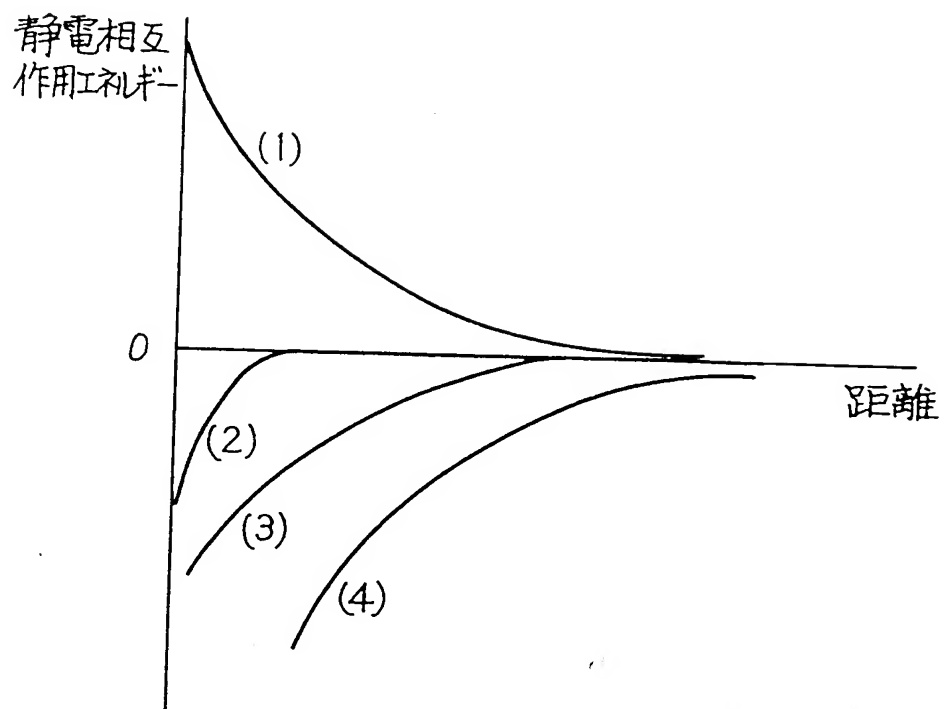


FIG. 23



FIG. 24

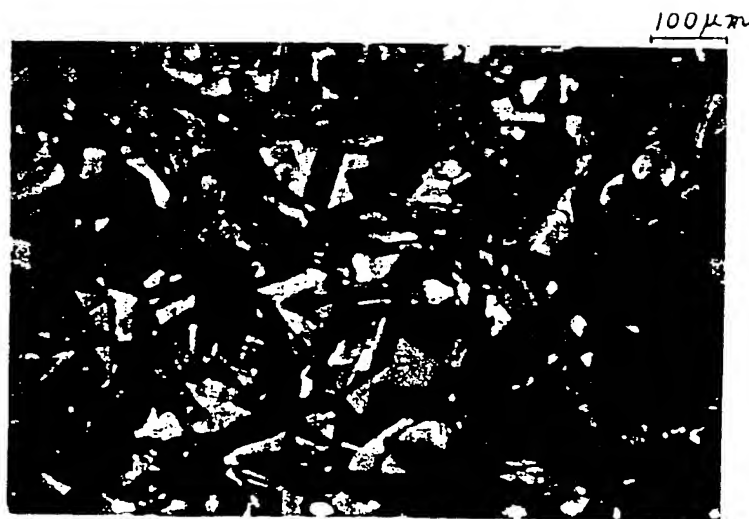


FIG. 25



FIG. 26



FIG. 27



FIG. 28



FIG. 29

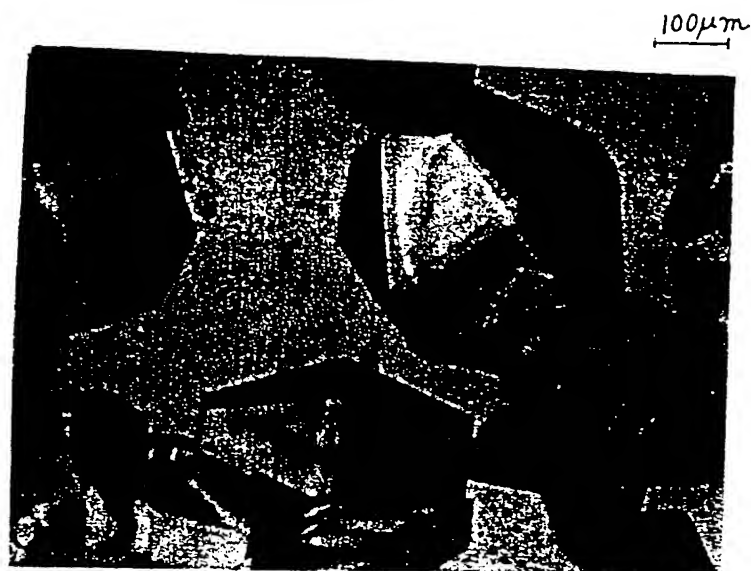


FIG. 30



FIG. 31



FIG. 32

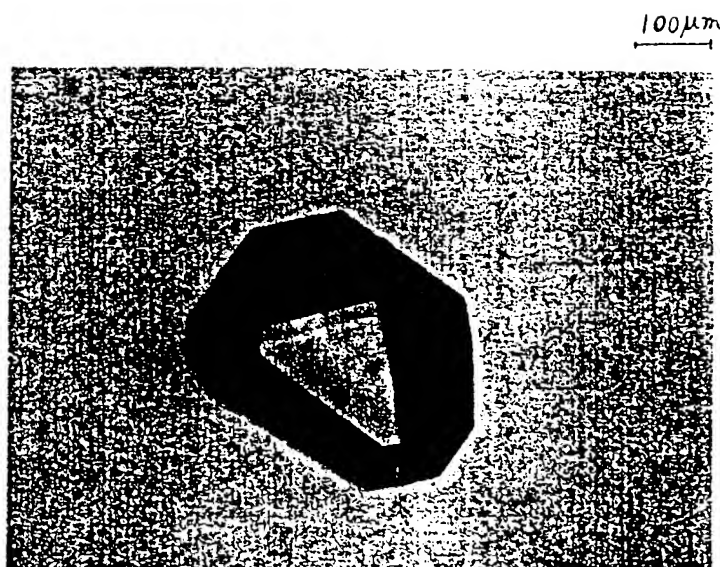


FIG. 33

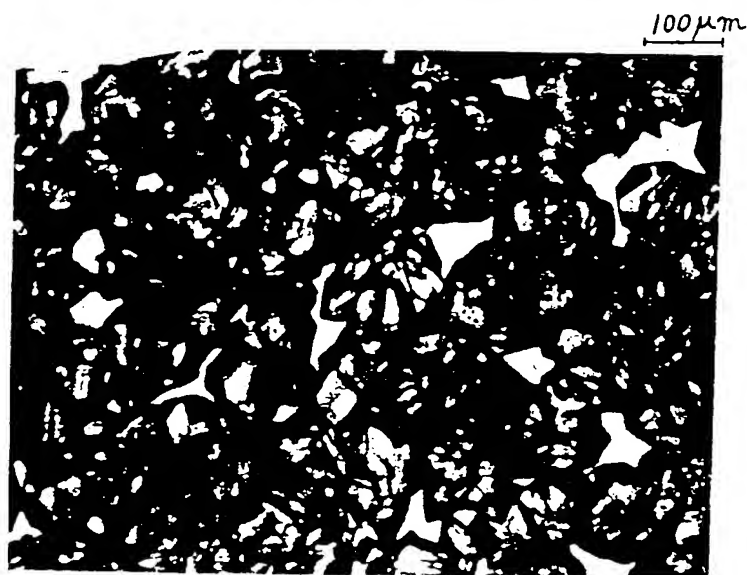


FIG. 34



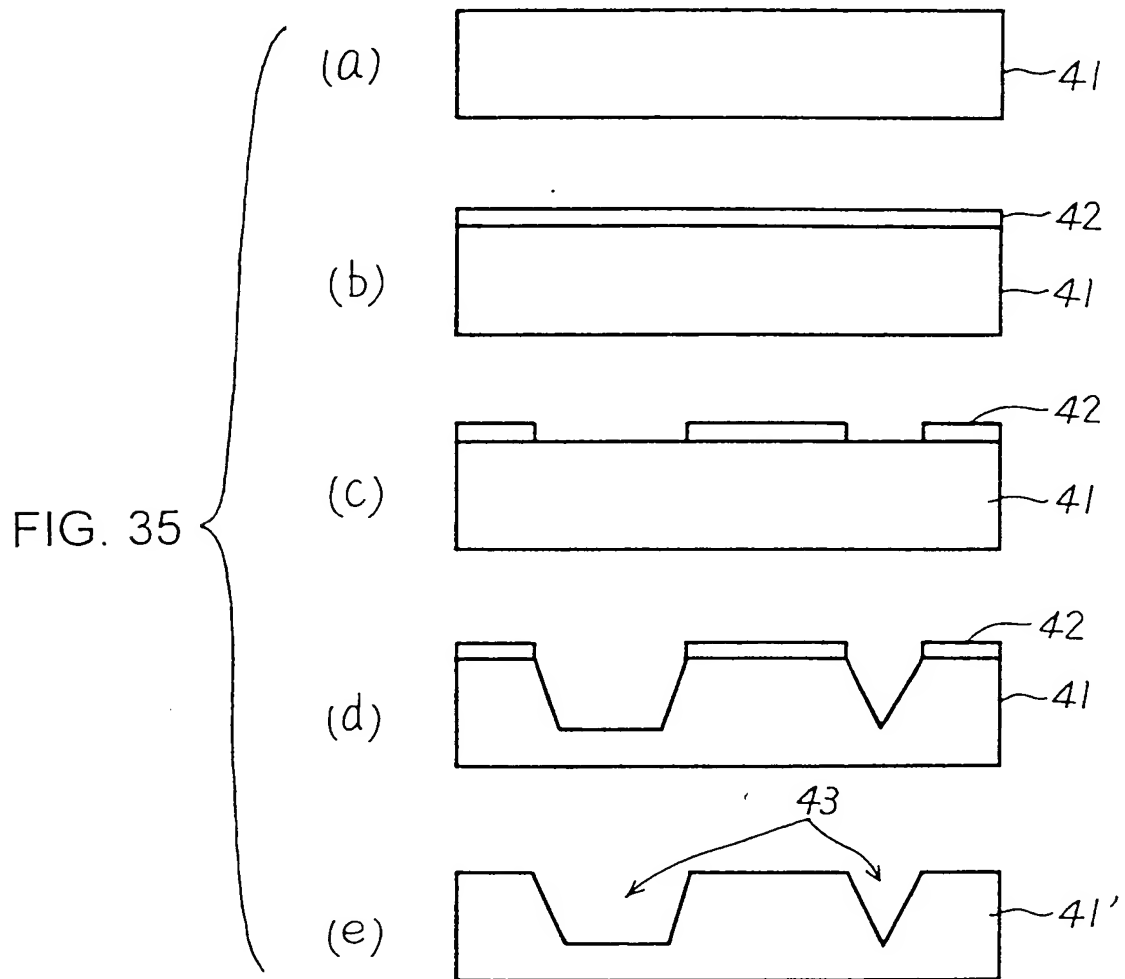


FIG. 36



FIG. 37



FIG. 38

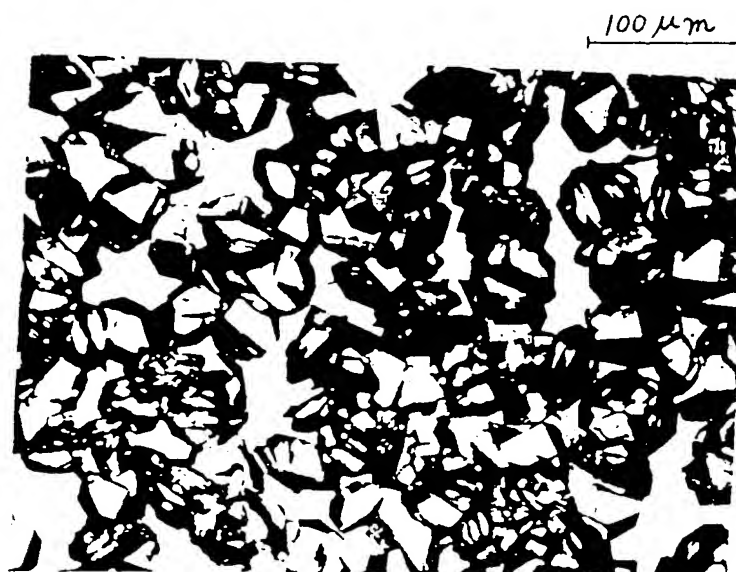


FIG. 39

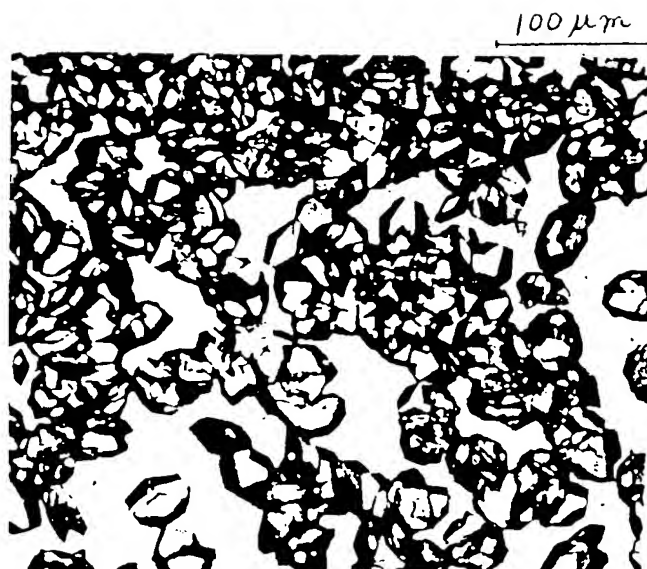


FIG. 40

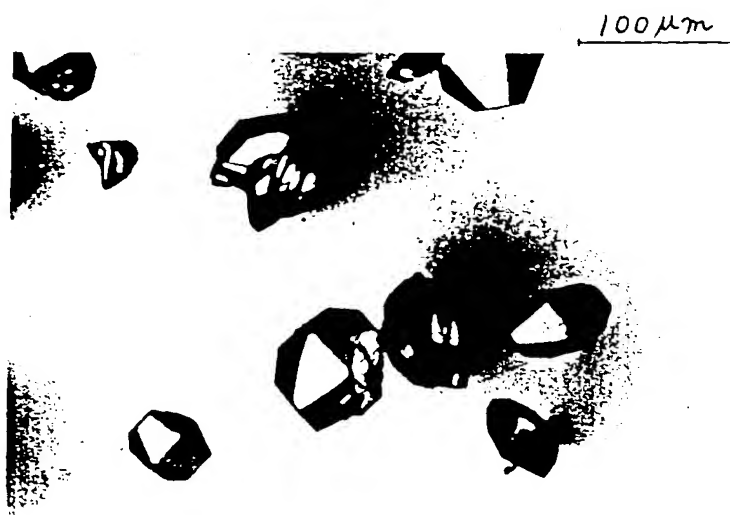


FIG. 41

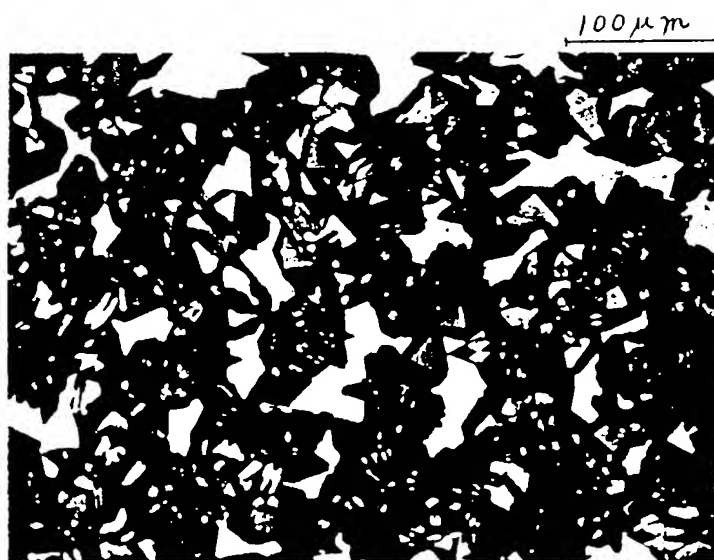


FIG. 42

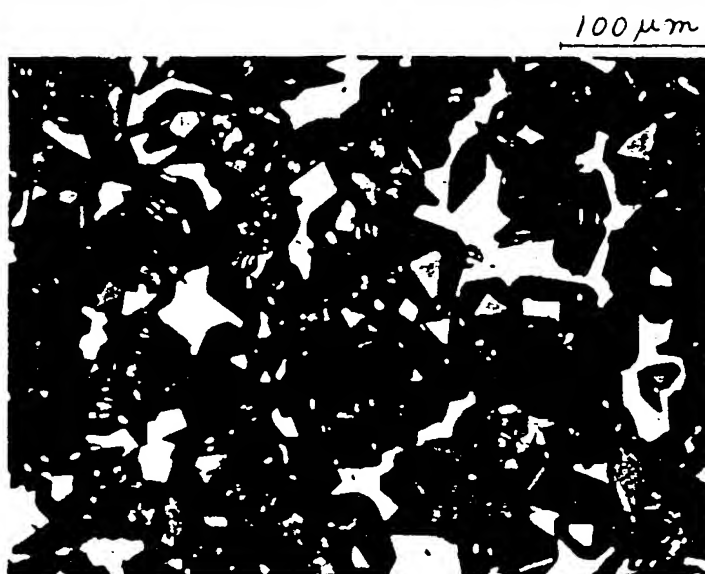


FIG. 43

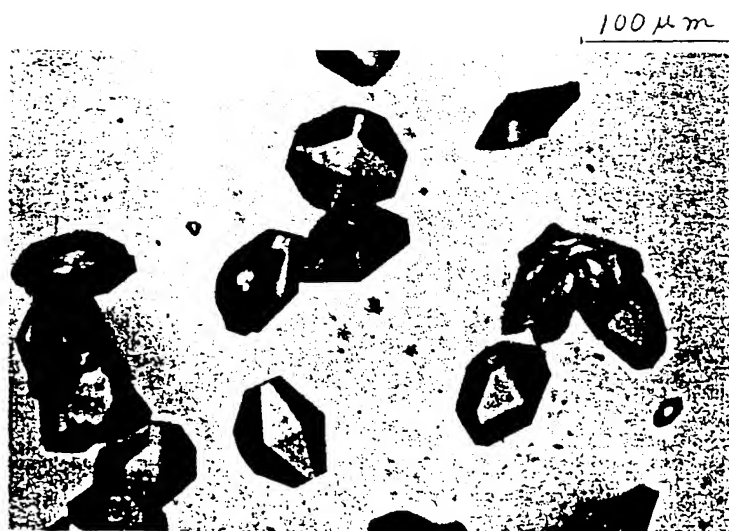


FIG. 44

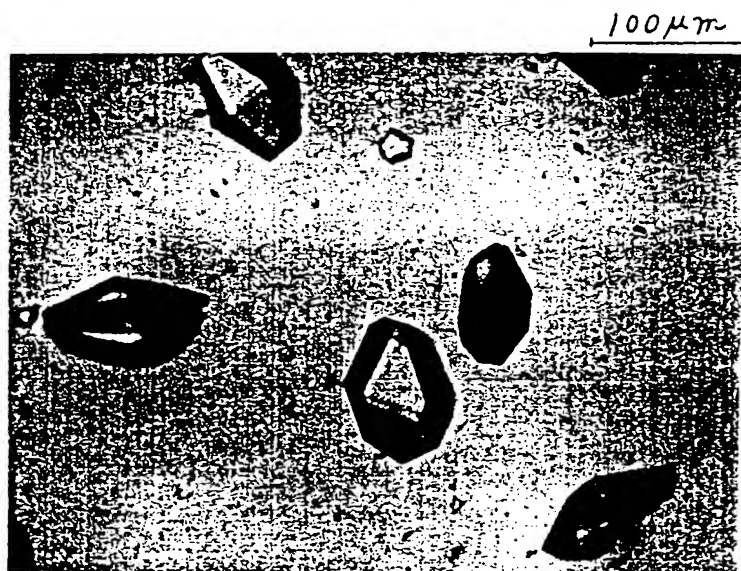


FIG. 45

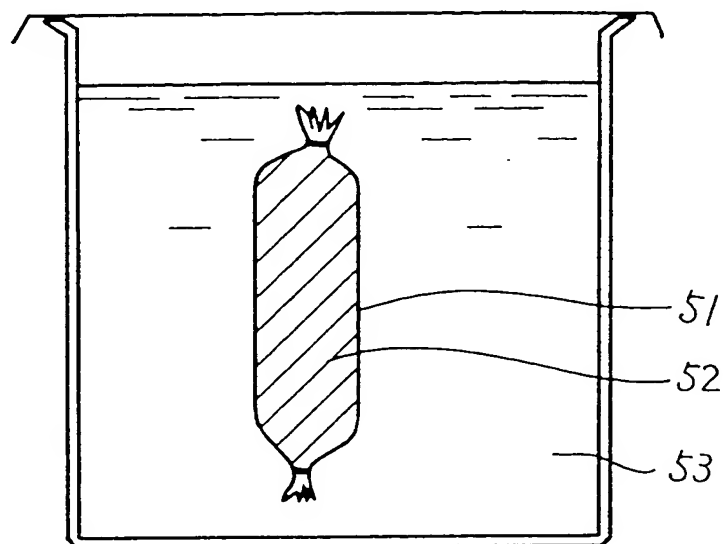
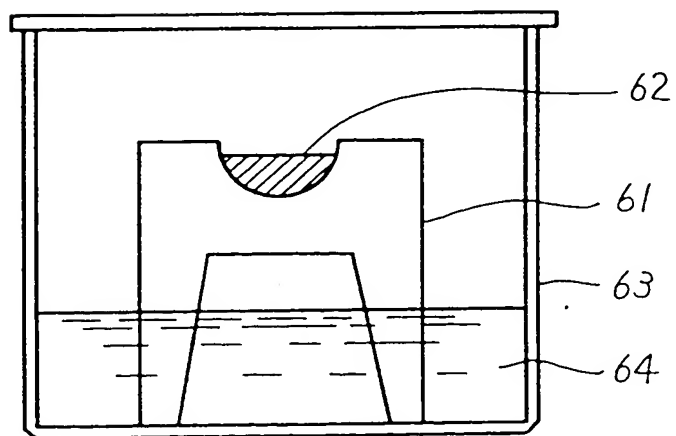


FIG. 46



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP96/00462

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int. Cl⁶ B01D9/02, 601, 9/02, 602, C30B29/54

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int. Cl⁶ B01D9/02, 601, 9/02, 602, C12N1/00, C30B29/54

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926 - 1997
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971 - 1995
Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994 - 1997

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP, 5-319999, A (sumitomo Electric Industries, Ltd.), December 3, 1993 (03. 12. 93) (Family: none)	1 - 20
A	JP, 6-116098, A (Director General, Agency of Industrial Science and Technology and another), April 26, 1994 (26. 04. 94) (Family: none)	1 - 20

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

May 13, 1996 (13. 05. 96)

Date of mailing of the international search report

May 21, 1996 (21. 05. 96)

Name and mailing address of the ISA/

Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ B 01 D 9/02, 6 0 1, 9/02, 6 0 2, C 3 0 B 2 9/5 4

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl⁶ B 01 D 9/02, 6 0 1, 9/02, 6 0 2, C 1 2 N 1/00, C 3 0 B 2 9/5 4

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1997

日本国公開実用新案公報 1971-1995

日本国登録実用新案公報 1994-1997

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	J P, 5-319999, A (住友電気工業株式会社) 3. 12月..1993 (03. 12. 93), (パテントファミリーなし)	1-20
A	J P, 6-116098, A (工業技術院外1名) 2'6. 4月. 1994 (26. 04. 94), (パテントファミリーなし)	1-20

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」先行文献ではあるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

13. 05. 96

国際調査報告の発送日

21.05.96

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

石 井 淑 久

4 D

7 6 0 3

電話番号 03-3581-1101 内線 3422